

Az MTA Állatgyógyászati Kutató Intézete  
(igazgató: *Derzsy Domokos dr.*, az állatorvostudományok doktora, c. egyet. tanár)

## Az ún. libainfluenza kóroktana, a kórokozó rendszerintani besorolása

Írta: *Kisary János dr.* és *Derzsy Domokos dr.*

### ÖSSZEFOGLALÁS

Az ún. libainfluenza következtében elhullott kislibák szerveiből embrionált libatojásban izolált vírustörzseket („B”, „H”, „LB”) sikerült libaembrió-fibroblastszövettenyésztetthez adaptálni. A fertőzött tenyészetben a sejtek lekerekedését, valamint festett tenyészetekben eosinophil magzárvány képződését lehetett megfigyelni. A „B” vírustörzs DNS-tartalmúnak, valamint rezisztensnek bizonyult a kloroform- és hőkezeléssel szemben, pH 3 nem befolyásolta az infektivitását. Negativkontraszt technikával készített elektronmikroszkópos képen 20—22 nm átmérőjű, envelop nélküli, köbös szerkezetű vírusrészecskék voltak láthatók.

A keresztneutralizációs próbák eredményei szerint a „B” vírustörzs szoros antigén-rokonságban van vagy azonos nemcsak a magyar „H” és „LB” jelű izolátumokkal, hanem a hasonló megbetegedésekből izolált holland, francia és szovjet vírustörzsekkel is.

Az említett tulajdonságok alapján az ún. libainfluenza kórokozóját a parvovirus csoportba ajánlatos besorolni.

### РЕЗЮМЕ

*Kisary J. и Дерзси Д.:* ЭТИОЛОГИЯ И СИСТЕМАТИЗАЦИЯ ЭТИОЛОГИЧЕСКОГО НАЧАЛА ТАК НАЗЫВАЕМОЙ ИНФЛЮЭНЦЫ ГУСЯ

Изолированные вирусные штаммы („B”, „H” и „LB”) из органов павших от т. наз. гусиной инфлюэнцы гусят удалось адаптировать к клеточной культуре из фибробластов гусиного зародыша. В зараженной культуре наблюдалось закругление клеток, в окрашенных же культурах образование эозинофильных ядерных включений. Вирусный штамм „B” оказался содержащим ДНК и резистентным к обработке хлороформом и температурой; pH 3 не сказывалось на его инfectивности. На отрицательно-контрастной технике приотвешленном электронно-микроскопическом снимке обнаружены базоболочные, сферические вирусные частицы, промера 20—22 nm.

Согласно результатам реакций перекрестной нейтрализации вирусный штамм „B” по антигенной структуре близко родствен не только венгерским штаммам „H” и „LB”, но и таковым, изолированным при подобной клиннки заболеваний в Голландии, Франции и Советском Союзе.

На основании упомянутых признаков возбудитель т. наз. инфлюэнцы гусей целесообразно включить в группу парвовирусов.

### SUMMARY

*Kisary, J. and Derzsy, D.:* CHARACTERIZATION AND CLASSIFICATION OF THE CAUSATIVE AGENT OF THE SO-CALLED GOOSE-INFLUENZA

Virus strains (designated „B”, „H” and „LB”) isolated in embryonated goose eggs from dead goslings by so-called goose-influenza have been adapted to tissue culture system. In goose embryo fibroblast tissue cultures the rounding up of the affected cells and in stained preparations eosinophilic inclusion bodies were seen. The „B” virus strain contained DNA and proved to be resistant to the chloroform- and heat-treatment. No decrease in the infectivity was found at an exposure to pH 3. Not enveloped viral particles with a diameter of 20—22 nm were seen on electronmicrograph made by negative-contrast technique.

A close antigenic relationship was found in the cross-neutralization test between not only the Hungarian isolates but also the Soviet, French and Dutch virus strains.

On the basis of properties investigated the causative agent of the so-called goose-influenza seems to belong to the parvovirus group.

### ZUSAMMENFASSUNG

*Kisary, J. und Derzsy, D.:* DIE ÄTIOLOGIE DER SOGENANTEN GÄNSEINFLUENZA UND EINREIHUNG DES ERREGERS IN DIE SYSTEMATIK

Aus den Organen von an Gänseinfluenza verendeten jungen Tieren in embryonierten Gänseeiern isolierte Virusstämme („B”, „H”, „LB”) konnten an Embryo-Fibroblastgewebekultur adaptiert werden. In der infizierten Kultur war eine Abrundung der Zellen sowie in gefärbten Kulturen die Bildung von eosinophilen Zellkerneinschlüssen zu beobachten. Der „B” Virusstamm enthält DNS und erwies sich ausserdem einer Behandlung mit Chloroform und Wärme gegenüber als resistent. Auf den mit negativer Kontrasttechnik angefertigten Elektronmikroskopbildern waren kubische Virusteile mit 20—22 nm Durchmesser, ohne Envelop zu sehen. Nach den Ergebnissen der Kreuzneutralisationsproben steht der „B”-Stamm in enger Antigenverwandtschaft oder deckt sich nicht nur mit den ungarischen „H” und „LB”, sondern auch mit den bei ähnlichen Erkrankungen isolierten holländischen, französischen und sowjetischen Virusstämmen. Auf Grund der erwähnten Eigenschaften ist es angebracht, den Erreger der Gänseinfluenza in die Gruppe der Parvoviren einzureihen.

Адрес авторов:  
Authors' address:  
Adresse der Verfasser:  
1681 Budapest 146.  
Postafiók 18.



A naposlibák Magyarországon 1964 óta előforduló, sokszor tömeges elhullását okozó betegség első eseteiből a *Haemophilus* genusba tartozó baktériumokat izoláltak, ennek és bizonyos kórbonctani hasonlóságnak tulajdonítható a betegség mai napig is használatos helytelen elnevezése (6). Késsel később megállapítást nyert, hogy a betegséget vírus okozza (4).

Embrionált libatojásban izolált egyes vírustörzsek a kísérleti állatfertőzés során a naposlibákra patogének voltak, viszont szövettenyészetbe való adaptálásuk és rendszertani besorolásuk nem járt sikerrel. A szövettenyészetben ténylegesen izolált reovírus-törzsek elsődleges kóroktani szerepét nem sikerült bizonyítani (2a, 2b). A tényleges kórokozónak látszó törzseket az embrionált libatojásban mutatott fiziko-kémiai tulajdonságaik, valamint patológiai analógiák alapján szintén a reovírus-csoportba tartozóknak vélték (5). Libaembrióban végzett későbbi vírusneutralizációs próbák eredménye alapján az izolált vírustörzseket legalább két eltérő szérotípusba sorolták (4). 1969-ben rekonvaleszcens szérummal oltott állományokban olyan járvány jelentkezett, amely nemcsak klinikai tünetei, kórbonctani elváltozásai és járványtani jellege tekintetében, de az állatvédelmi kísérletek eredménye szerint a kórokozó antigénszerkezetében is különbözönek látszott a korábbiaktól (1).

Az alábbiakban beszámolunk a „B” és „H” jelű, valamint az 1969. évi járvány során izolált „LB” jelű vírustörzsek szövettenyészetbe történt adaptálásáról, ezúton megismert tulajdonságairól, valamint antigénszerkezetéről.

## Saját vizsgálatok

### Anyag és módszer

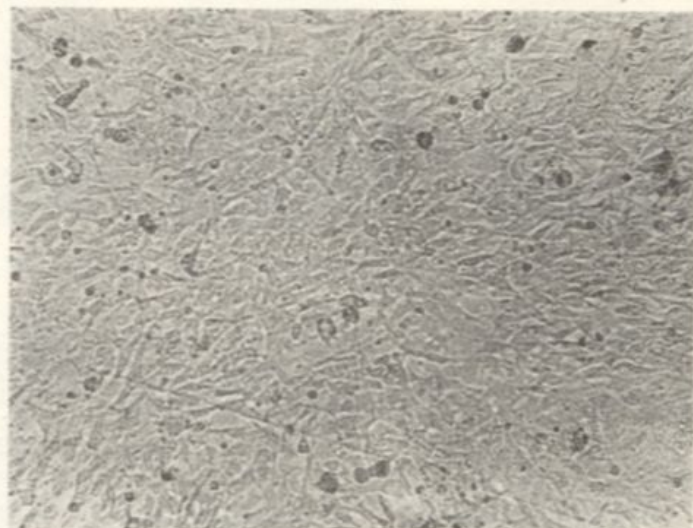
**Vírustörzsek:** a „B”, „H” és „LB” jelű magyar törzsek, valamint a szerológiai összehasonlító vizsgálatokba bevont holland (*Hoekstra dr.*), francia (*Dannacher dr.*) és szovjet (*Kontrimavicsusz dr.*) vírustörzsek.

**Immunsavók.** A szövettenyészetben elszaporított vírustörzseket ultracentrifugálással tisztítottuk és koncentráltuk. A nyert vírusszuszpenzióval nyulakat immunizáltunk. Elvéreztetésük után a savókat inaktívtuk, majd  $-20^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

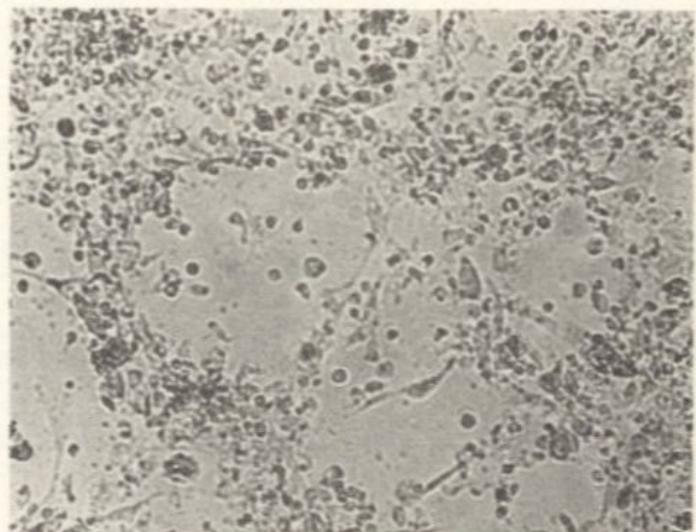
A vírustörzseket 14 napos libaembrióból készült egyrétegű fibroblast-sejttenyészetekbe oltottuk. A cytopathológiai elváltozás jelentkezését natív állapotban naponta, majd metanosol fixálás után hematoxilin-eozinnal festett készítményekben vizsgáltuk. A „B” vírustörzs kloroform- és hőrezisztenciáját, pH 3 kémhatáson való stabilitását, valamint nukleinsav-tartalmának meghatározását a standard virológiai módszerekkel vizsgáltuk. A „B” vírustörzs elektronmikroszkópos képét *Kapp Pál dr.* egyet. docens készítette negatívkontraszt technikával, amiért ezúton is köszönetet mondunk. Ugyancsak köszönet illeti a francia, ill. a szovjet vírustörzs elleni savó átadásáért *Dannacher dr.-t*, ill. *Kontrimavicsusz dr.-nőt*.

### Eredmények

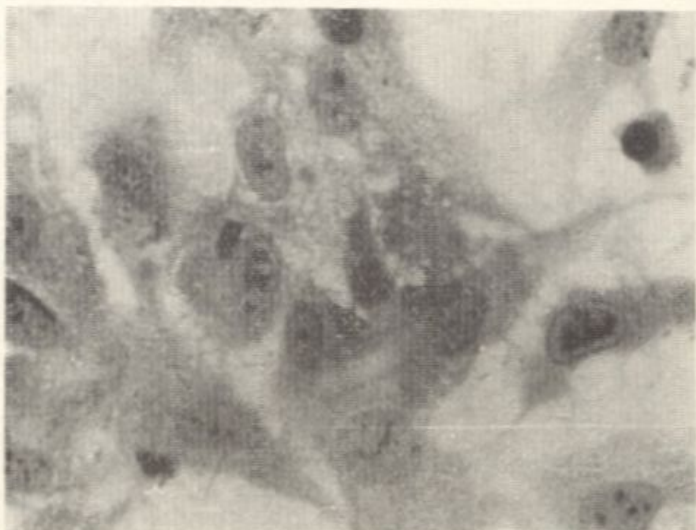
A vizsgált vírustörzsek néhány (2–5) vakpaszszás után jól felismerhető cytopathológiai elváltozást okoztak. Natív állapotban a fertőzést követő 3–5. napon a sejtek lekerekedése és zsugorodása, majd az üvegdedényzet faláról való leválása volt



1. kép. Nem fertőzött libaembrió-fibroblastsejttenyészet  
Natív készítmény. Kb. 80 $\times$

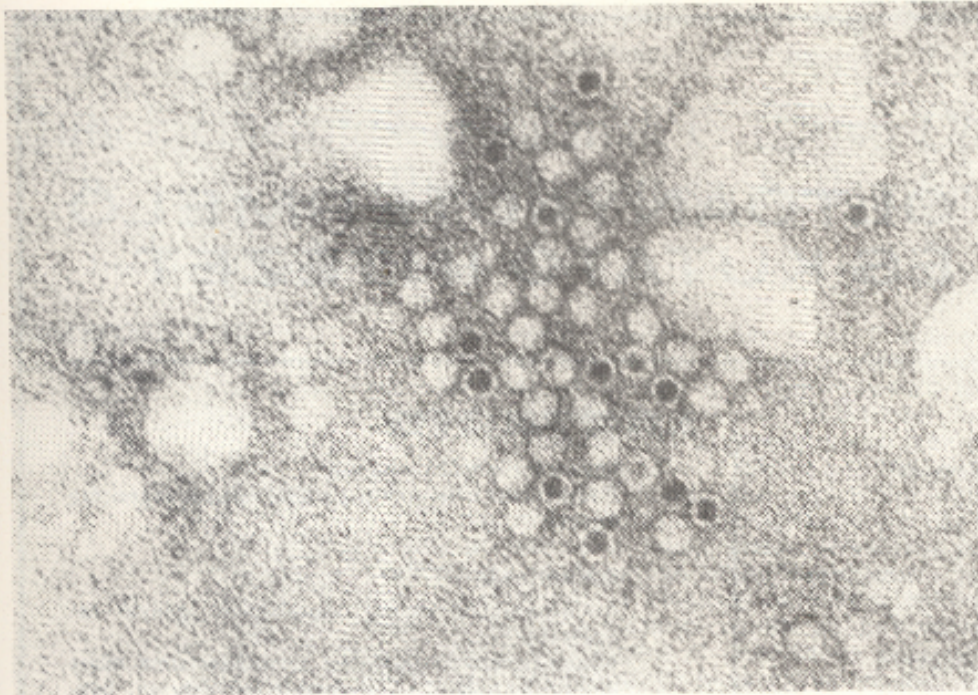


2. kép. „B” vírustörzssel fertőzött libaembrió-fibroblastsejttenyészet  
Natív készítmény. Kb. 160 $\times$



3. kép. „B” vírustörzssel fertőzött libaembrió-fibroblastsejttenyészet  
H.—E. Kb. 800 $\times$





4. kép. A „B” vírustörzs virionjainak negatívkontraszt technikával készített elektronmikroszkópos képe  
237 000X

megfigyelhető (1. és 2. kép). Festett készítményben a vírus által megtámadott sejtekben Cowdry-A típusú eosinophil magzárványok voltak láthatók (3. kép).

Mint hogy a cytopathológiai elváltozások mindhárom vírustörzs („B”, „H”, „LB”) esetében azonosak voltak és antigénsajátosságaik sem mutattak érdemleges eltérést, a részletes fiziko-kémiai és morfológiai vizsgálatokat csak a „B” jelű vírustörzssel végeztük el. A „B” vírustörzs fertőzőképességét nem csökkentette sem a klóroform-, sem pedig az 56 °C-on 30 percig tartó hőkezelés, vagy

rustörzs szoros antigénrokonságot mutatott (táblázat).

### Megbeszélés

A „B”, „H” és „LB” jelű vírustörzsek kisszámú vakpasszázs után replikálódtak a libaembrió-fibroblastsejtenyészeten, és mind natívan, mind a festett szövetenyészeten jól jellemezhető sejt-károsító elváltozást lehetett felismerni. A fiziko-kémiai és morfológiai vizsgálatok eredményei meggyeznek a NSZK-ban és Franciaországban hasonló megbetegedésekből izolált vírustörzsek vizsgálatok kapott eredményekkel (7, 3).

A sejtenyészeten elvégzett keresztneutralizációs próbakban a vizsgált magyar és külföldi vírustörzsek szoros antigénrokonságot mutattak. Ez eltér az embrionált libatojásban, valamint naposlibakon végzett állatvédelmi kísérletekben kapott korábbi eredményektől, miszerint a „B”, „H” és „LB” jelű vírustörzsek külön szerotípusokat képviselnek (5, 1). A különböző rendszerekben végrehajtott antigénrokonsági vizsgálatok eredményeinek különbözőségét ma még nem tudjuk szabatosan megmagyarázni.

A „B” vírustörzs ismert tulajdonságai alapján az ún. libainfluenza kórokozóját a parvovírusok csoportjába sorolhatjuk.

A vírustörzsek antigénrokonságának vizsgálata keresztneutralizációs próbakban

Vírus törzsek	Immunsavók					
	„B”	„H”	„LB”	holland	francia	szovjet
„B”	5120*	2560	5120	5120	1024	1280
„H”	5120	2560	5120	5120	512	NV**
„LB”	2560	640	5120	2560	256	NV
Holland	5120	2560	2560	5120	1024	NV
Francia	2560	1280	1280	2560	256	NV
Szovjet	1280	NV	NV	NV	NV	1280

\* — A titereket a savók azon legnagyobb hígításának reciprok értékében fejeztük ki, amely hígításnál a savó teljes mértékben neutralizálta a 100 TCID<sub>50</sub>-virust.

\*\* — Nincs vizsgálva.

a savas kémhatású közeg (pH 3). A 2-iodo-deoxyuridin a „B” vírustörzs szaporodását gátolta, tehát az ágens DNS-tartalmának bizonyult. A negatívkontraszt technikával készített elektronmikroszkópos képeken envelop nélküli, kb. 20—22 nm átmérőjű vírusrészecskék láthatók, a részecskék jelentős hányada nem tartalmazott nukleinsav-„mag”-ot (in-komplett virionok, 4. kép).

A keresztneutralizációs próbakban mindhárom magyar, valamint a francia, holland és szovjet ví-

### IRODALOM

1. Bernáth S.—Szalai F.: Magy. Áo. Lapja, 1970, 25, 531. — 2a. Csontos L.—M. Kis-Csatári M.: Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 1967, 17, 107. — 2b. Uők: Uott, 1967, 17, 115. — 3. Dannacher, G.—Fouillet, X.—Coubert, M.—Fedida, M.—Peillon, M.: Rec. Med. Vet., 1974, 150, 49. — 4. Derzsy D.—Szép I.—Szöke F.: Magy. Áo. Lapja, 1966, 21, 388. — 5. Derzsy D.—Drén Cs.—Szedő M.—Surján J.—Tóth B.—Iró E.: Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 1970, 20, 419. — 6. M. Kis-Csatári M.: Magy. Áo. Lapja, 1965, 20, 140. — 7. Schettler, C. H.: Avian Path., 1973, 2, 179.

Közlésre érke.: 1974. szept. 16.