

Występowanie mieszanych zakażeń BLV, BHV-1 i BVD-MD w stadach bydła mlecznego

ANDRZEJ SALWA, JAN RUŁKA*, ZBIGNIEW ARENT

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk

*Pracownia Patologii Komórkowej Państwowego Instytutu Weterynaryjnego Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Salwa A., Rułka J., Arent Z.

The prevalence of the mixed infection of BLV, BHV-1, BVD-MD in dairy herds

Summary

The aim of the study was to assess the frequency of infectious BLV, BHV-1 and BVD-MD in cattle and estimate the degree of interaction between those viruses. The investigations were carried out in 3 herds of calves from identical industrial sheds. Antibodies against BLV were found in 51.6%, against BHV-1 in 39.9%, and an antibody against BVD-MD in 32.6%. The study showed a simple correlation between prevalence of antibodies against BLV and BHV-1 which means that as the percentage of infected animals with BLV increased, so did percentage of animals infected with BHV-1. The results suggest the possible coexistence of BLV and BHV-1 infection in cattle.

Keywords: cattle, mixed infection, BLV, BHV-1, BVD-MD.

Piśmiennictwo ostatnich lat coraz częściej sygnalizuje występowanie synergizmu wirusów czyli wspierającego działania w organizmie jednego wirusa przez inne (3, 5, 13, 15, 21). Larski (8) przytacza liczne dane, z których wynika, że wtórne zakażenie wirusem już wcześniej występujących infekcji wirusowych u ludzi i zwierząt, poprzez współdziałanie prowadzi do komplikacji niekiedy groźniejszych niż zakażenie pierwotne. Można tu wymienić wpływ wspomagającego działania herpeswirusa ludzkiego typu 1 (HSV-1) w ekspresji wielu genów wirusa upośledzenia odporności (HIV-1) (20, 21, 22). Wykazano również synergistyczne działanie herpeswirusa Epstein-Barra wraz z HIV-1 w patogenezie białaczki włochatokomórkowej (HLP) u ludzi (21). Na stymulujący udział wirusa grypy świń w rozwoju syndromu rozrodzo-oddechowego u świń (PRRSV) zwrócili uwagę badacze niemieccy (4). Natomiast współdziałanie pomiędzy wirusem anemii zakaźnej (CAV) a reowirusem u kurcząt opisali McNeilly i wsp. (10). Ostatnio potwierdzono, że występowanie białaczki u kotów może być spotęgowane przez wtórne zakażenie wirusem panleukopenii (FPLV) (9). W Polsce badania na temat wpływu równoczesnego zakażenia wirusem PI-3 i wirusem białaczki bydła (BLV) prowadził Rułka i wsp. (14, 15). Również Kuźmak pisał o możliwości występowania zależności między wirusem nabytego braku odporności bydła (BIV) a BLV u bydła (7).

Wieloletnie obserwacje epizootologiczne oraz rutynowe badania laboratoryjne wykonane w ZHW w Gdańsku u bydła mlecznego w gospodarstwach hodowli wielkostadnej na terenie Wybrzeża Gdańskiego wykazały znaczne rozprzestrzenienie zakażeń bydła wirusem enzootycznej białaczki (BLV) (5-70%), herpeswirusem bydlęcym typu 1 (BHV-1) (2,5-50%) oraz wirusem biegunki i choroby błon śluzowych bydła (BVD-MD) (do 45%) (17, 18).

Celem badań było określenie częstotliwości występowania w surowicy krwi bydła przeciwciał dla wirusa BLV, BHV-1 i BVD-MD oraz ustalenie stopnia współzależności między tymi wirusami podczas zakażenia mieszanego.

Materiał i metody

Badania wykonano w latach 1997/1998 u bydła mlecznego pochodzącego z 3 gospodarstw rolnych jednego z województw Wybrzeża Gdańskiego. W gospodarstwach tych ogółem przebadano 464 zwierząt z tego 197 w gospodarstwie S. P., 161 w gospodarstwie B i 106 zwierząt w gospodarstwie M. Materiał do badań stanowiły: surowica krwi bydła i wymazy z pochwy krów. Zakres badań obejmował wykrywanie przeciwciał swoistych dla wirusów: BHV-1 test IBR gB blocking ELISA, firma IDEXX Lab., USA; BLV-test immunodufuzji w żelu agarozowym, BVD-MD – test Serelisa BVD/BD Ab Monoblocking, firma Symbiotics, Francja. Uzyskane wyniki badań serologicz-

nych poddano analizie statystycznej stosując test χ^2 (chi-kwadrat) dla $v = 1$ stopnia swobody i poziomu istotności $\alpha = 0,05$ (11, 23).

Wyniki i omówienie

Wyniki badań bydła zestawiono w tab. 1-3 oraz przedstawiono graficznie na ryc. 1. Z analizy danych w tab. 1 i ryc. 1 wynika, że odsetek bydła posiadającego przeciwciała dla wirusa białaczki był wysoki i wynosił w poszczególnych gospodarstwach od 40,6% do 57,8% (średnio – 51,6%). Dane te korespondują z wcześniej prowadzonymi wieloletnimi obserwacjami i badaniami rutynowymi na tym terenie, z których wynika, że enzootyczna białaczka u bydła ma charakter stacjonarny. W latach 1970-74 Rutkowiak i Górniewska (16) przeprowadzili badania kliniczne i hematologiczne o charakterze inwentaryzacyjnym nad występowaniem białaczki u bydła w gospodarstwach upołączonych na tym samym terenie, gdzie obecnie prowadzono badania. Autorzy ci obserwowali u krów guzowatą postać białaczki oraz stwierdzili około 30% zwierząt z przewlekłą leukocytozą. W tab. 1 przedstawiono wyniki dotyczące zakażeń BHV-1. Wskaźnik zakażeń wynosił średnio 39,8%. Największy odsetek zwierząt wykazujących dodatni wynik testu ELISA stwierdzono w gospodarstwie S. P., tj. 43,5%. W gospodarstwie B. dodatni wynik kontroli serologicznej notowano u 42,1%, a w gospodarstwie M. u 29,2%. Prowadzone przez Pracownię Wirusologiczną ZHW w Gdańsku w latach 1982-1998 obserwacje epizootologiczne, badania wirusologiczne i serologiczne u buhajów w punktach kopulacyjnych oraz u krów w hodowli wielkostadnej z terenu, skąd pochodziły zwierzęta, wykazały jednocześnie występowanie klinicznych i podklinicznych postaci zakażenia wirusem BHV-1 (17, 19). Z kolei w stosunku do wirusa BVD-MD reagowało mniej zwierząt w porównaniu BLV i BHV-1 (tab. 1 i ryc. 1). Najwyższy odsetek bydła zakażonego było w stadzie M. – 33,0%. Natomiast w gospodarstwie B. stwierdzono 30,5% dodatnich reakcji. Najniższy odsetek seroreagentów był w stadzie S. P. – 29,8%. Przedstawione wyniki badań są zgodne z danymi uzyskanymi przez innych autorów (12, 26). Przeglądowe badania serologiczne Polaka wykazały, że w zależności od regionu kraju odsetek zakażonych krów BHV-MD wynosił od 40% do 90% zwierząt (12). W badaniach własnych przeprowadzonych w stadach krów, w których obserwowano zaburzenia w rozrodzie, biegunki u cieląt, u około 50% wykryto swoiste przeciwciała dla wirusa BVD-MD (18).

Wyniki własne w kierunku obecności przeciwciał anty-BLV i anty-BHV-1 wykazały, że między tymi wskaźnikami występują zależności proste. Stwierdzono, że w poszczególnych stadach, w miarę wzrostu wartości odsetka zwierząt posiadających przeciwciała anty-BLV wzrastał także odsetek krów reagujących serologicznie dodatnio w kierunku wirusa BHV-1 (ryc. 1). Zależności te wyrażone na podstawie wyli-

Tab. 1. Wyniki badań serologicznych w badanych stadach krów mlecznych

Rodzaj wirusa	Liczba badanych zwierząt	Liczba zakażonych zwierząt	Odsetek zakażonych zwierząt
BLV	464	239	51,6
BHV-1	464	184	39,8
BVD-MD	439	143	32,6

Tab. 2. Liczba i odsetek zwierząt reagujących dodatnio i ujemnie dla wirusa BLV i BHV-1

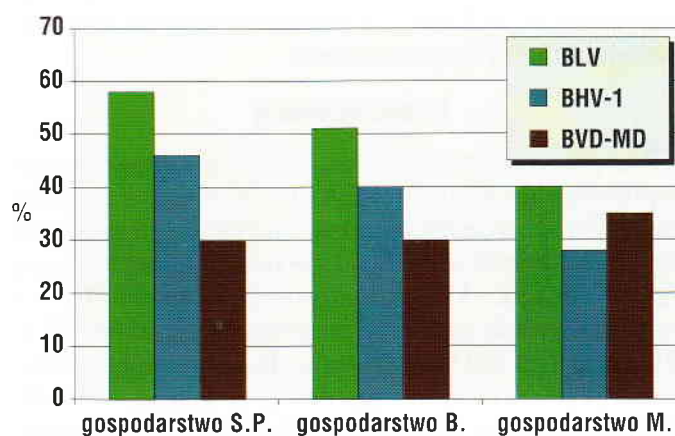
BLV	BHV-1	
	dodatnie	ujemne
dodatnie	131 (28,2%)	108 (23,2%)
ujemne	53 (11,4%)	172 (37,1%)

Objaśnienia: $n = 464$, $\chi^2 = 4,73$

Tab. 3. Liczba i odsetek zwierząt reagujących dodatnio i ujemnie dla wirusa BLV i BVD-MD

BLV	BVD-MD	
	dodatnie	ujemne
dodatnie	83 (18,9%)	156 (35,5%)
ujemne	60 (13,7%)	140 (31,9%)

Objaśnienia: $n = 439$, $\chi^2 = 1,10$



Ryc. 1. Występowanie przeciwciał dla wirusa BLV, BHV-1 i BVD-MD w surowicy krwi bydła w badanych stadach

czeń matematycznych wykazały, że test niezależności χ^2 ($\alpha = 0,05$) między stopniem zakażenia BLV i BHV-1 w stadach bydła wynosił: $\chi^2 = 4,73$ i nieznacznie przekraczał wartości obszaru krytycznego $\chi^2_{\alpha} = 3,841$ (tab. 2). Wynik testu χ^2 sugeruje, że może istnieć pewien stopień współzależności między tymi zakażeniami. W nawiązaniu do uzyskanych badań własnych

należy przytoczyć dane Hohensteina i wsp. (6), którzy zależności między tymi wirusami nie stwierdzili. Autorzy ci przedstawili wyniki badań wykonanych za ledwie na 34 krowach pochodzących z kilkunastu przypadkowo wybranych stad, w których liczba zwierząt wahała się od kilku do kilkudziesięciu. Jak wspomniano powyżej przeprowadzone badania własne dotyczyły stad krów na terenie gdzie zakażenie tymi wirusami obserwowano od wielu lat. Jakkolwiek do chwili obecnej mechanizm synergizmu wymienionych wirusów nie został wyjaśniony, to podjęto już pewne próby odpowiedzi na te pytania w oparciu o wyniki doświadczeń molekularnych nad mechanizmem synergizmu retrowirusów i herpeswirusów u ludzi (25, 26). Jednym z takich elementów wspólnego oddziaływania jest według Shafer i wsp. (25) wpływ białka-ICPO z HSV-1 na regulację transkrypcyjną i i posttranskrypcyjną prowirusa HIV. Badacze ci wykazali między innymi, że obecność białka ICPO wspomaga niestrukturalne białko Tat retrowirusa uczestniczące w zapoczątkowaniu syntezy wczesnego m-RNA. Z kolei inni badacze podkreślają udział układu immunologicznego w powstawaniu synergizmu wirusowego. Można tu przytoczyć wyniki badań Clouse i wsp. oraz Chana i wsp. (1, 2). Stwierdzili oni stymulujący wpływ cytokin uwalnianych z zakażonych komórek HSV-1 na ekspresję wielu genów wirusa HIV. Również interesujące wyniki badań przedstawili Zhu i wsp. (25). Wykazali oni, że stopień proliferacji limfocytów T zakażonych równocześnie wirusami HSV-1 i HIV był wyższy w porównaniu do proliferacji limfocytów zakażonych tylko jednym wirusem. Porównanie wyników badań własnych w odniesieniu do wskaźnika zakażenia BLV i BVD-MD wykazało niskie wartości testu $\chi^2 = 1,10$ (tab. 3). Wartość ta była jednak mniejsza od wartości krytycznej $\chi^2_{\alpha} = 3,841$, co wskazywałoby na brak zależności między tymi wirusami.

Podsumowanie

Przeprowadzone badania świadczą o możliwości współistnienia wirusów BHV-1 i BLV w zakażonych stadach krów. Między wynikami badań serologicznych występuje prosta zależność co oznacza, że w miarę wzrostu odsetka krów zakażonych wirusem BHV-1 wzrasta odsetek zwierząt zakażonych wirusem BLV. Wyrazem tego jest wartość testu chi-kwadrat, która nieznacznie przekraczała wartość krytyczną $\chi^2_{\alpha} = 3,841$. W świetle badań własnych, badania nad występowaniem mieszanych zakażeń wirusowych winny być kontynuowane zarówno ze względów poznawczych jak też praktycznych.

Piśmiennictwo

1. Chan W. L., Tizard M. L. V., Faulkner L.: Proliferative T-cell response to glycoprotein B of the human herpes viruses: the influence of MHC and sequence of infection on the pattern of cross-reactivity. *Immunology* 1989, 68, 96-101.
2. Clouse K. A., Powell D., Washington I., Poli G., Strebel K., Farrar W., Barstad P., Kovacs J., Fauci A. S., Folks T. M.: Monokine regulation of human immunodeficiency virus-1 expression in chronically infected human T-cell

- line. *J. Immunol.* 1989, 142, 431-438.
3. Flaming K. P., Frank D. E., Carpenter S., Roth J. A.: Longitudinal studies of immune function in cattle experimentally infected with bovine immunodeficiency-like virus and/or bovine leukemia virus. *Vet. Immunol.* 1997, 56, 27-38.
4. Groschup M. H., Brun A., Hass B.: Serological studies on the potential synergism of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and influenza-, corona- and paramyxoviruses in the induction of respiratory symptoms in swine. *J. Vet. Med. B.* 1993, 40, 681-689.
5. Hildago G., Flores M., Bonilla J. A.: Detection and isolation of bovine immunodeficiency-like virus (BIV) in Dairy Herds of Costa Rica. *J. Vet. Med. B.* 1995, 42, 155-161.
6. Hochstein-Mintzel V., Riedeman S., Alonso O., Niedda M., Aguilar M., Reinhardt G., De Veer C., Rojas X., Chahuan E., Ehrenfeld J., Del Campo H., Montes L., Tamayo R.: No existiría interdependencia entre Leucosis bovina y Rinotraqueitis infecciosa bovina. *J. Vet. Med. B.* 1986, 33, 161-165.
7. Kuźmak J.: Wirus BIV – fakty i hipotezy. *Mat. Sekcji Epizoot. PTNW. Dawne i nowe choroby zakaźne bydła.* Warszawa, 1999, 11-15.
8. Larski Z.: Wzajemne oddziaływanie wirusów. *Medycyna Wet.* 1992, 48, 3-8.
9. Lutz H., Castelli I., Ehrensperger F., Pospischil A., Roskopf M., Siegl G., Grob M., Martinod S.: Panleukopenia-like syndrome of FeLV caused by co-infection with FeLV and feline panleukopenia virus. *Vet. Immunol.* 1995, 46, 21-33.
10. McNeilly F., Smyth J. A., Adair B. M., McNulthy M. S.: Synergism between chicken anemia virus (CAV) and avian reovirus following dual infection of 1-day-old chicks by a natural route. *Avian Dis.* 1995, 39, 532-537.
11. Miller T.: Elementy Statystyki Medycznej. PZWL, Warszawa, 1978.
12. Polak M. P.: BVD-MD. Występowanie, czynnik etiologiczny, diagnostyka. *Mat. Sekcji Epizoot. PTNW. Dawne i nowe choroby zakaźne bydła.* Warszawa, 1999, 20-24.
13. Rey D., Fraïze S., Vidinic J., Meyer P., Fritsch S., Labouret N., Schmitt C., Lang J. M., Stoll-Keller F.: High prevalence of GB virus C/hepatitis G virus RNA in patients infected with human immunodeficiency virus. *J. Med. Virol.* 1999, 57, 75-79.
14. Rulka J., Grundboeck M.: Wpływ równoczesnego zakażenia wirusem parainfluenzy-PI 3 i wirusem enzoootycznej białaczki bydła-BLV na przebieg procesu białaczkowego u cieląt w warunkach doświadczalnych. *Mat. VIII Kongresu PTNW, Warszawa 1987, 4, 53-54.*
15. Rulka J., Klimentowski S., Szczotka M., Stec J.: Występowanie enzoootycznej białaczki bydła (ebb) w warunkach naturalnego zakażenia stad wirusem parainfluenzy (PI 3). *Medycyna Wet.* 1994, 50, 265-267.
16. Rutkowiak B., Górniewska R.: Wartość badań hematologicznych u krów z podkliniczną postacią enzoootycznej białaczki bydła (ebb) zależnie od wieku. *Mat. V Zjazdu PTNW, Olsztyn 1974, 1, 163.*
17. Salwa A.: Występowanie przeciwciał dla wirusa IBR-IPV w surowicy krwi bydła na terenie środkowo-wschodniego Wybrzeża. *Medycyna Wet.* 1987, 43, 553-555.
18. Salwa A.: Seroepizootyczne badania nad występowaniem zakażeń wirusowych u krów roniących. *Medycyna Wet.* 1991, 47, 557-558.
19. Salwa A.: Charakterystyka zakażeń herpeswirusem bydlęcym typu 1 (BHV-1) w stadach krów mlecznych z uwzględnieniem aspektów epizootologii molekularnej. *Praca hab. Wydział Weterynaryjny, SGGW, Warszawa, 1997.*
20. Schafer S. L., Vlach J., Pitha P. M.: Cooperation between herpes simplex virus type 1-encoded ICPO and Tat to support transcription of human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat in vivo can occur in the absence of the TAR binding site. *J. Virol.* 1996, 70, 6937-6946.
21. Vlach J., Pitha P. M.: Herpes simplex virus type 1-mediated induction of human immunodeficiency virus type 1 provirus correlates with binding of nuclear proteins to the NF- κ B enhancer and leader sequence. *J. Virol.* 1992, 66, 3616-3623.
22. Vlach J., Pitha P. M.: Differential contribution of herpes simplex virus type 1 gene products and cellular factors to the activation of human immunodeficiency virus type 1 provirus. *J. Virol.* 1993, 67, 4427-4431.
23. Wachnik Z.: Zarys chorób zakaźnych zwierząt. PWN, Warszawa, 1983.
24. Walling D. M., Clark N. M., Markovitz D. M., Frank T. S., Braun D. K., Eisenberg E., Krutchkoff D. J., Felix D. H., Raab-Traub N.: Epstein-Barr virus coinfection and recombination in nonhuman immunodeficiency virus-associated oral hairy leukoplakia. *J. Infect. Dis.* 1995, 171, 1122-1130.
25. Zhu X. X., Chen C. S., Huang A. S.: Phenotypic mixing between human immunodeficiency virus and vesicular stomatitis virus or herpes simplex virus. *AIDS* 1990, 3, 215-219.
26. Żmudziński J., Baczyński Z.: Wirus BVD-MD jako czynnik etiologiczny biegunki u cieląt noworodków. *Medycyna Wet.* 1985, 41, 110-113.