

Analiza komórek odpornościowych krwi owiec w przebiegu doświadczonego zakażenia wirusem (BIV)*

BOŻENNA KOZACZYŃSKA, LEOKADIA BICKA, JACEK KUŹMAK, ANNA WINNICKA*

Zakład Biochemii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

*Katedra Chorób Wewnętrznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Kozaczyńska B., Bicka L., Kuźmak J., Winnicka A.

Phenotypic analysis of peripheral blood leukocytes in sheep experimentally infected with bovine immunodeficiency virus (BIV)

Summary

The aim of the experiment was a FACS analysis of the immune response of peripheral blood leukocytes of sheep infected with bovine immunodeficiency virus BIV. Five sheep were experimentally inoculated with FBL (Foetal Lung Bovine) cells infected with the BIV R29 strain while four control animals were inoculated with non-infected FBL cells. The anti-BIV antibody response, total number of leukocytes, granulocytes and lymphocyte subset (B, T, CD4, CD8) and monocytes were assessed for 48 weeks following incubation. All animals seroconverted to BIV p26 core protein by 6 weeks after inoculation (ai). The influence of BIV infection on cell immunity was demonstrated by the increased number of T cells, especially the T_H population as well as B cells in the early phase of infection. In BIV inoculated sheep leukocytes, lymphocytes and T_H cells significantly increased between the 8th and 48th weeks ai. In contrast, the number of B cells increased between the 2nd and 12th weeks ai and no significant changes in granulocyte and monocyte number were noted. At the beginning of the infection the number of T_C cells increased until week 12 of the experiment. The established model of BIV infection in sheep provides valuable data for examining the pathogenesis of BIV and related retroviruses.

Keywords: BIV, serology, lymphocyte, sheep

Wirus nabytego braku odporności bydła (Bovine Immunodeficiency Virus – BIV) zaliczany jest do rodziny *Retroviridae*, rodzaju *Lentivirinae* i wykazuje duże podobieństwo do wirusa HIV-1 pod względem organizacji genomu jak i budowy antygenowej (5). Badania serologiczne przeprowadzone w ostatnich latach potwierdziły występowanie zakażeń u znacznego odsetka zwierząt w wielu krajach, w tym w Polsce (9). Pomimo licznych badań rola BIV jako patogenu jest słabo poznana i nadal nie wyjaśnione jest czy wirus ten może wywołać określony zespół objawów chorobowych czy też odpowiedzialny jest za wywoływanie pierwotnego niedoboru odporności, prowadzącego do rozwoju innych zakażeń i strat w hodowli (1).

Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań i pomimo przyjęcia nazwy „immunodeficiency virus” nie wykazano, aby BIV wywoływał klasyczny stan niedoboru immunologicznego, tak jak w przypadku wirusów HIV czy FIV. Potwierdzono natomiast, u doświadczalnie zakażonych zwierząt, zaburzenia funkcji układu immunologicznego, sprowadzające się do obniżenia zdolności fagocytarnych monocytów/makro-

fagów, zmienionej reaktywności limfocytów krwi na stymulację mitogenami, nieznacznie opóźnionej odpowiedzi humoralnej po podaniu obcego T-zależnego antygeny (4, 11, 13). W podobnych badaniach, opartych jednak na zakażeniu *in vitro* monocytów obserwowano podwyższoną fagocytozę oraz istotne obniżenie zależnej od przeciwciał cytotoksyczności komórkowej (ADCC) (12). Wszystkie te zmiany łączyć można z faktem silnego powinowactwa BIV do komórek układu limfatycznego, głównie do monocytów i limfocytów krwi (6).

W nielicznych badaniach analizowano odpowiedź immunologiczną gospodarza na zakażenie BIV. Wyraża się ona przede wszystkim produkcją przeciwciał skierowanych przeciw białku p26, które też pojawiają się jako pierwsze po zakażeniu. Swoista odpowiedź komórkowa towarzysząca zakażeniu BIV jest słabo udokumentowana. Jej istnienie mogą potwierdzać badania Zhanga i wsp. (17), którzy u cieląt zakażonych BIV wykazali podwyższoną reaktywność limfocytów po stymulacji *in vitro* białkiem będącym produktem ekspresji genu gag BIV.

Celem pracy była ocena stanu układu immunologicznego owiec doświadczalnie zakażonych wirusem BIV. Do oceny tej wykorzystano metodę cytometrii

*1 Praca wykonana w ramach projektu badawczego KBN nr 5 P06K 00611.

przepływowej, która przy zastosowaniu przeciwciał monoklonalnych pozwala na różnicowanie i ilościową ocenę różnych typów komórek krwi, co z kolei umożliwia monitorowanie stanu układu immunologicznego. Obserwacje takie połączono z analizą występowania swoistych przeciwciał dla BIV w surowicy krwi doświadczalnych zwierząt.

Materiał i metody

Doświadczalne zakażenie. Do badań użyto 9 tryków rasy kent w wieku 4 miesięcy. Pięciu zwierzętom podano dożylnie 1×10^8 komórek FBL (Foetal Bovine Lung), zakażonych wirusem BIV (szczep R29), zawieszonych w 40 ml podłoża hodowlanego. Inokulum takie otrzymano poprzez kokultywację komórek FBL/BIV (klon 1203 otrzymany od dr J. Miller, NADC, Ames, USA) z nie zakażonymi komórkami FBL, w stosunku 1:3. Komórki FBL/BIV hodowano w podłożu Eaglea w modyfikacji Dulbecco, z dodatkiem 10% surowicy cielęcej płodowej i zbierano po 7 dniach hodowli, kiedy obserwowano największe nasilenie efektu cytopatycznego w postaci syncytiów. Pozostałym czterem trykom, stanowiącym grupę kontrolną, podano 1×10^8 komórek FBL. Stan zakażenia monitorowano serologicznie pobierając krew co 2 tyg. przez pierwsze 3 miesiące po zakażeniu (pz), a następnie w odstępach 4 tyg. aż do 48 tygodnia p.z. W analogiczny sposób pobierano krew do badań morfologicznych i analizy cytometrycznej.

Badanie hematologiczne. Krew do badań hematologicznych, podobnie jak do analizy cytometrycznej pobierano do probówek z roztworem soli sodowej EDTA, jako antykoagulantu. Badania morfologiczne wykonano przy użyciu analizatora hematologicznego Auto Counter AC920 (Swelab Instrument) oznaczając liczbę leukocytów, limfocytów i granulocytów.

Analiza cytometryczna. Celem identyfikacji poszczególnych subpopulacji limfocytów zastosowano monoklonalne przeciwciała anty: CD14 (CAM36A), CD2 (MUC2A), CD19 (BAQ44A), CD8 (CACT80C), CD4 (GC50A1) firmy VMRD Inc. Pullmann oraz anty CD45 (MCA 896) firmy Serotec, skierowane przeciw antygenom grupowym różnicującym leukocyty krwi. Znakowanie komórek przeprowadzono metodą pośrednią inkubując 50 μ l pełnej krwi z 1 μ l każdego z przeciwciał przez 15 min. Po związaniu antygenów powierzchniowych z mabs komórki inkubowano z odpowiednimi koniugatami używając poliklonalnych lub monoklonalnych przeciwciał skoniugowanych z tioizocyjanianem fluoresceiny (FITC) lub z fykoerytryną (PE), firmy Medac oraz biotynylowanych przeciwciał związanych ze streptawidyną znakowaną fykoerytryną (Sa-PE), firmy Becton Dickinson. Nadmiar przeciwciał nie związanych z komórkami jak i nadmiar koniugatu odplukiwano buforem PBS z dodatkiem 2% surowicy końskiej (bez g-globulin), 10% ACD (dekstroza z dodatkiem dwuwodnego cytrynianu sodu i kwasu cytrynowego) oraz 10 mM EDTA, wirując 5 min. przy 150 g. Po inkubacjach obecne w próbach erythrocyty lizowano buforem lizującym, używając do płukania bufor o składzie analogicznym jak poprzednio, jednak bez dodatku surowicy końskiej. Ostatecznie, próby do odczytu cytometrycznego zawieszano w 2% roztworze formaldehydu w PBS. Skład subpopulacji

limfocytów określano metodą selekcji negatywnej, stosując kolejno dwustopniową inkubację każdej próby z dwoma mabs: anty CD14 (monocyty) – anty CD45 (limfocyty), anty CD19 (limfocyty B) – anty CD2 (limfocyty T), anty CD4 (limfocyty T_H) – anty CD8 (limfocyty T_c). W badaniach wykorzystywano cytometr przepływowy FAC-Star (Becton Dickinson).

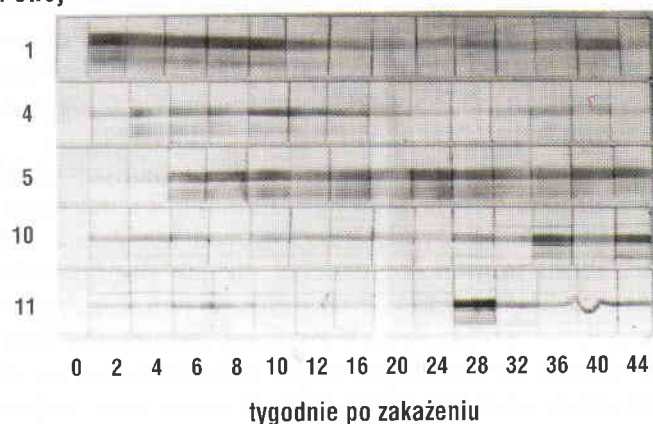
Badania serologiczne. Do oznaczania przeciwciał dla wirusa BIV wykorzystano metodę western blot z użyciem jako antygeny, rekombinowanego białka p26, uzyskanego przez ekspresję genu gag BIB w komórkach *E. coli*. Procedury otrzymywania, oczyszczania antygeny oraz metody western blot były identyczne jak opisane w poprzedniej pracy (9).

Wyniki i omówienie

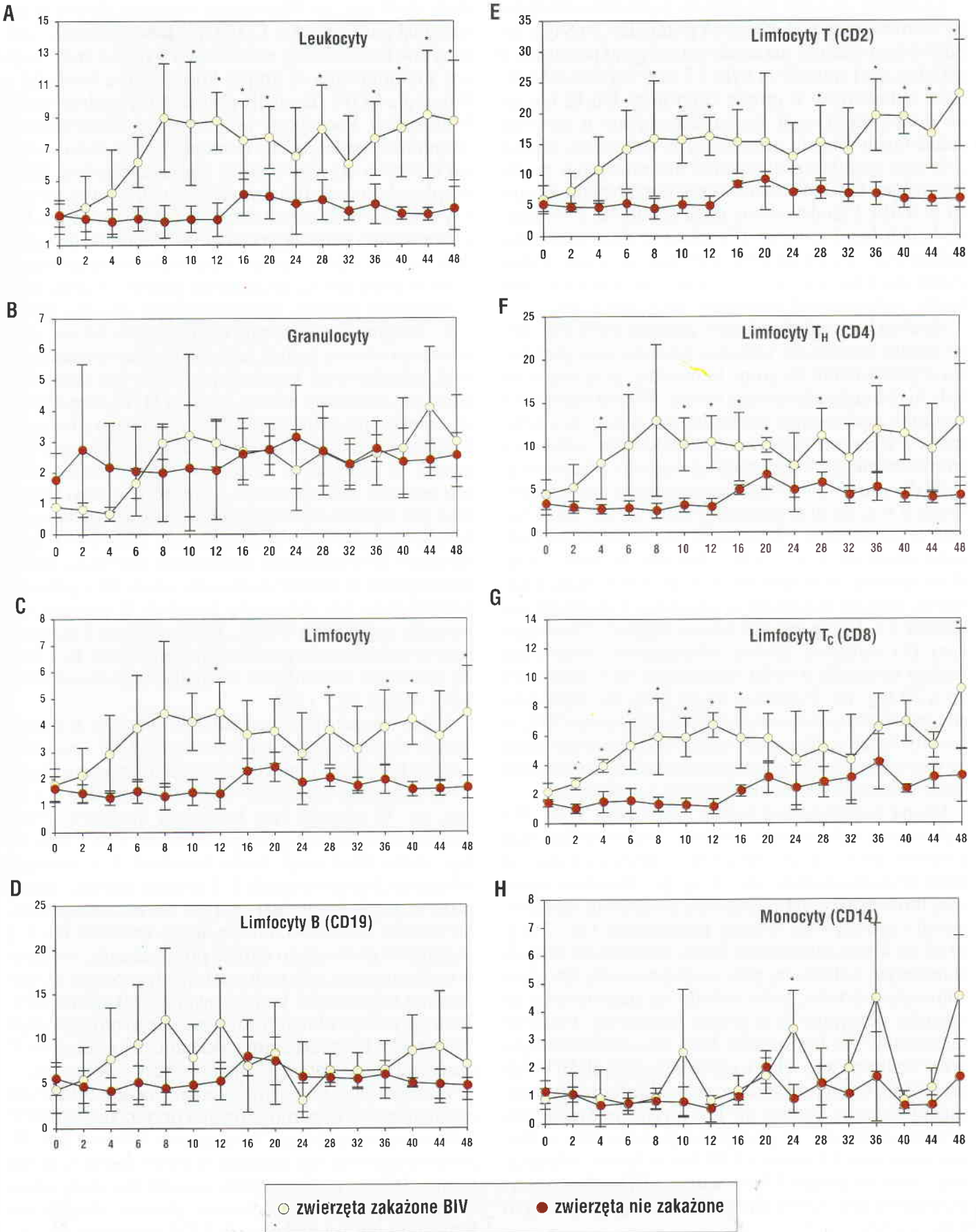
W warunkach naturalnych zakażenie wirusem BIV notowane jest wyłącznie u bydła. Doświadczalnie, co wykazano w omawianych badaniach, możliwe jest przeniesienie zakażenia na owce jakkolwiek, wydają się one bardziej odporne na zakażenie niż cielęta (8). Na ryc. 1 przedstawiono wyniki oznaczania przeciwciał dla białka p26 BIV metodą western blot. W okresie pomiędzy 2 a 6 tyg. po zakażeniu (pz) wszystkie zakażone owce uległy serokonwersji i pozostały serologicznie dodatnie aż do końca obserwacji. Żadna z czterech owiec grupy kontrolnej nie wykazała obecności przeciwciał. Pośród 5 zakażonych owiec, u dwóch serokonwersja wystąpiła w 2 tyg. pz, u pozostałych dwóch w 4 tyg. pz, a u jednego zwierzęcia swoiste przeciwciała obecne były od 6 tyg. pz. Narastanie miana przeciwciał w surowicy krwi niektórych zwierząt, wyrażone intensywnością prążka na blotach nie było ściśle skorelowane z czasem po zakażeniu. Obserwowano wzrost koncentracji przeciwciał pomiędzy 4 a 12 tyg. pz, kiedy to miano wykazywało najwyższe wartości od 1/1600 do 1/3200, a następnie ich stopniowe obniżanie się, aż do końca obserwacji.

W badaniu morfologicznym i cytometrycznym wykazano wyraźne różnice w liczebności poszczególnych populacji komórek krwi, zależnie od czasu po zakażeniu. Dane te zestawiono na ryc. 2.

Nr owcy



Ryc. 1. Analiza występowania przeciwciał dla białka p26 wirusa BIV oznaczanych metodą western blot w próbach surowicy krwi owiec



Ryc. 2. Kształtowanie się liczby komórek krwi obwodowej owiec w przebiegu doświadczalnego zakażenia wirusem BIV
 Objasnienia: oś odciętych przedstawia czas po zakażeniu w tygodniach; oś rzędnych bezwzględną liczbę komórek ($10^9/L$) dla A, B i C; liczbę komórek dla D, E, F, G i H przedstawiono jako $10^8/L$. * różnice statystycznie istotne przy $p < 0,05$.

Oceniając poziom leukocytów wykazano drastyczny wzrost liczby tych komórek pomiędzy 2 a 8 tyg. pz. Najwyższą wartość parametr ten osiągnął pomiędzy 8 a 12 tyg. pz i wartość ta była 3,5 razy wyższa od wartości notowanych w grupie kontrolnej. Od 12 tyg. pz do końca obserwacji liczba leukocytów u zwierząt zakażonych ulegała nieznacznym wahaniom, jednak cały czas różniła się od wartości notowanych w grupie kontrolnej. Opisane różnice były statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). Przedstawione dane zgodne są z wynikami badań Jacobsa i wsp. (8) którzy, u doświadczalnie zakażonych owiec obserwowali wzrost liczby leukocytów do 8 tyg. pz i utrzymywanie się podwyższonej liczby tych komórek pomiędzy 16 a 24 tyg. pz.

Analiza bezwzględnej liczby granulocytów (ryc. 2B) wykazała nieznaczące wahania wartości tego parametru w porównaniu do grupy kontrolnej, przy czym nie były to różnice statystycznie istotne. Wzrost liczby tych komórek miał miejsce pomiędzy 8 a 12 tyg. pz i korelował z okresem najwyższej leukocytozy, natomiast zmniejszanie ich liczby poniżej wartości obserwowanych dla grupy kontrolnej zanotowano w ciągu pierwszych 8 tyg. pz oraz pomiędzy 20 a 32 tyg. pz. Chociaż w omawianych badaniach nie analizowano odsetka neutrofilii i eozynofili, badania Jacobsa i wsp. (8) wskazują, że liczebność tych dwóch populacji komórek istotnie wzrastała u zakażonych zwierząt pomiędzy 2 a 10 tyg. pz. Co więcej, badania Flaminga i wsp. (4) wykazały istotne zahamowanie niektórych funkcji neutrofilii u cieląt zakażonych BIV, pomiędzy 16 a 20 tyg. pz. Ponieważ do tej pory nie wykazano aby granulocyty były aktywnie zakażane przez BIV, to zmiany liczby i zaburzenia funkcji tych komórek mogą być pośrednio modulowane przez cytokiny wydzielane przez zakażone wirusem monocyty i limfocyty.

Ocena bezwzględnej liczby limfocytów (ryc. 2C) wykazała u zakażonych zwierząt wzrost liczby tych komórek do 8 tyg. po zakażeniu i utrzymywanie się podwyższonej wartości do 12 tyg. pz. Ten okres wczesnej limfocytozy był identyczny z okresem serokonwersji i intensywnej syntezy przeciwciał. Od 12 tyg. pz aż do końca obserwacji liczba limfocytów ulegała okresowym wahaniom, przy czym przez cały ten okres notowano wartości, które różniły się statystycznie od wartości notowanych w grupie kontrolnej. Podobne zachowanie się limfocytów krwi obserwowane było przez Onumę i wsp. (11) u cieląt zakażonych BIV. Jak się wydaje występowanie wczesnej limfocytozy u zakażonych cieląt i owiec nie jest związane z rodzajem użytego inokulum. W przypadku podania BIV w formie zakażonych komórek FBL lub w formie infekcyjnego molekularnego klonu wirusa (BIV-106) obserwowano istotny wzrost limfocytów w ciągu pierwszych 6 tyg. pz (2).

Dzięki analizie cytometrycznej z zastosowaniem Mabs dla CD19, CD2, CD4 i CD8 możliwa była ilościowa ocena limfocytów B, T, T_H i T_C. Zmiana liczby limfocytów B charakteryzowała się stopniowym wzro-

stem do 8 tyg. pz. Najwyższe wartości parametr ten osiągnął pomiędzy 8 a 12 tyg. pz, kiedy to liczba limfocytów B u zwierząt zakażonych była 2,5 razy wyższa niż notowana w grupie kontrolnej, a komórki o fenotypie CD19 stanowiły prawie 30% ogólnej liczby limfocytów. Począwszy od 12 tyg. pz obserwowano stopniowy spadek liczby komórek B, nawet do wartości niższych niż notowane w grupie kontrolnej. Silny rozplam komórek B już w pierwszych 2-4 tyg. pz pokrywał się z momentem serokonwersji i związany był z intensywną syntezą przeciwciał. Podobnie do zakażeń wywoływanych przez inne lentiwirusy przeciwciała skierowane są początkowo przeciw białku p26, a następnie przeciw glikoproteidowi otoczki gp110 (14). Przyjmuje się, że rolą tych przeciwciał jest neutralizacja wirusa, jednak najnowsze dane wskazują na brak jakiegokolwiek korelacji pomiędzy ich mianem a stopniem replikacji wirusa *in vivo* (3). Występowanie wczesnej limfocytozy typu B łączyć można również z bezpośrednim, stymulującym działaniem BIV na te komórki. W pierwszym okresie po zakażeniu możliwa jest bowiem izolacja wirusa z limfocytów krwi i możliwe jest wykazanie obecności cząstek wirusa lub jego kwasu nukleinowego w limfocytach typu B (6). Jako możliwy do wyjaśnienia mechanizm interakcji BIV z limfocytami B rozpatrywano aktywność BIV jako superantygeny lub aktywację komórek B poprzez sekwencję sygnałową YXXL, która odgrywa kluczową rolę w indukowaniu proliferacji limfocytów B, a której obecność stwierdzono w białku transmembranowym wirusa BLV (16).

Nieco inaczej niż w przypadku limfocytów B kształtowała się liczba komórek o fenotypie CD2 (ryc. 2E). Liczba komórek T powoli ale systematycznie wzrastała, osiągając najwyższe wartości pomiędzy 8 a 20 tyg. pz. W okresie tym limfocyty stanowiły 38% wszystkich komórek jednojądrzastych. Przez cały 48 tyg. okres obserwacji liczba komórek T u zwierząt zakażonych przewyższała 2-3 krotnie wartości notowane w grupie kontrolnej i były to wartości statystycznie istotne. Kształtowanie się liczby komórek B i T, z wyjątkiem pierwszego okresu po zakażeniu, wskazuje na dominującą rolę tych ostatnich w procesie kształtowania odpowiedzi komórkowej na zakażenie BIV. Taka aktywacja układu T komórkowego mogłaby być związana z bezpośrednim zakażeniem limfocytów T przez wirus, co potwierdzają niektórzy autorzy (6).

Ważnym zagadnieniem dla poznania komórkowych mechanizmów odpornościowych przy zakażeniu BIV jest ocena subpopulacji limfocytów CD4 i CD8. W przeciwieństwie do zakażeń wywoływanych przez wirusy HIV czy FIV, którym towarzyszą stany silnej immunosupresji, spowodowane głównie działaniem litycznym wirusa na komórki CD4, działania takiego nie wykazano na przykładzie wirusa BIV. Potwierdziły to wyniki prezentowanych badań, które wykazały wzrost liczby komórek obydwu populacji w grupie zwierząt zakażonych BIV, szczególnie w okresie pierw-

szych 8 tyg. pz, dla komórek CD4 i w pierwszych 12 tyg. pz, dla komórek CD8. W okresach tych różnice pomiędzy grupą zwierząt zakażonych BIV a grupą kontrolną były istotne statystycznie. W grupie zakażonej w 8 tyg. pz zanotowano najwyższy odsetek limfocytów CD4 wynoszący 28,8% w stosunku do ogólnej liczby limfocytów. Dane te zgodne są z wynikami badań Jacobsa i wsp. (8), którzy u owiec zakażonych BIV w 2 miesiącu pz zanotowali istotny wzrost liczby CD4 i stosunku CD4/CD8. W podobnych badaniach przeprowadzonych na cielętach Hirai i wsp. (7) nie odnotowali natomiast istotnych różnic w liczebności komórek CD4 i CD8, pomimo wzrostu ogólnej liczby limfocytów. Przedstawione wyniki jasno wskazują na stymulujący wpływ zakażenia wirusem BIV na obydwie populacje komórek. Ponieważ moment wzrostu liczby CD4 i CD8 przypada na okres serokonwersji i syntezy przeciwciał można przyjąć, że podobnie jak w przypadku innych lentiwirusów główną rolę pobudzonych limfocytów T_H jest wydzielanie cytokin związanych z proliferacją i różnicowaniem limfocytów B, a także wydzielanie IFN- γ oraz β -chemokin (MIP-1 α , MIP- β) wspomagających komórki CD8. Jak wspomniano na wstępie pracy u cieląt zakażonych BIV możliwe było wykazanie już w 7 dniu pz podwyższonej reaktywności limfocytów CD4 na stymulację *in vitro* rekombinowanym białkiem p26 BIV (17). Tak reagujące komórki można było wykazać do 24 tyg. pz, co może świadczyć o istnieniu swoistej odporności komórkowej. Rola swoiście uczulonych limfocytów T_C nie została do tej pory potwierdzona, ale można przypuszczać, że podobnie jak w zakażeniu wirusem HIV, pełnią one istotną rolę w kontroli wirerii w początkowej fazie zakażenia (10). Przy omawianiu komponenty komórkowej układu immunologicznego towarzyszącej zakażeniu BIV należy nawiązać do badań Smitha i wsp. (13), którzy badali niektóre mechanizmy komórkowe u owiec zakażonych BIV i immunizowanych ovalbuminą oraz BCG. Autorzy ci w 4 tyg. pz wykazali niższe miano przeciwciał po immunizacji ovalbuminą i obniżoną odpowiedź limfocytów po stymulacji *in vitro* tuberkuliną u owiec zakażonych w stosunku do grupy kontrolnej. Wyniki tych testów, związanych z użyciem T-zależnych antygenów, sugerować mogą okresowe zaburzenia funkcji T limfocytów w następstwie zakażenia wirusem BIV. Mechanizm działania BIV sprowadzałby się do ograniczenia ekspresji białek MHC klasy I i II przez niektóre białka regulatorowe BIV, podobnie jak ma to miejsce w przypadku białka nef wirusa HIV-1.

Ostatnim z ocenianych wskaźników komórkowej odpowiedzi immunologicznej towarzyszącej zakażeniu wirusem BIV była liczba monocytów. Ze względu na fakt, że monocyty i makrofagi odgrywają kluczową rolę w patogenezie zakażeń wywoływanych przez lentiwirusy badania wielu badaczy skupiły się na analizie funkcji tych komórek po zakażeniu BIV. Whetstone i wsp. (15) oraz Heaton i wsp. (6) u cieląt do-

świadczalnie zakażonych terenowymi szczepami BIV FL112 oraz R29 już 3 dnia pz wykazali obecność pro-wirusowego BIV DNA w monocytach oraz wysoką aktywność odwrotnej transkryptazy w supernatantach z nad hodowli tych komórek. Onum i wsp. (11) u cieląt zakażonych BIV potwierdzili obecność wirusa testem syncytialnym w monocytach do 7 tyg. pz. Natomiast Rovid i wsp. (12) badając niektóre funkcje monocytów wykazali istotne zwiększenie fagocytozy i migracji tych komórek oraz obniżenie cytotoksyczności związanej z przeciwciałami (ADCC) po zakażeniu monocytów *in vitro*. Wyników takich nie notowano natomiast izolując monocyty od zakażonych cieląt. Obserwacje te świadczą o aktywnej replikacji BIV w monocytach i o zaburzeniu funkcji obronnych tych komórek w początkowym okresie po zakażeniu. W badaniach własnych wykazano, że do 10 tyg. pz liczba komórek z markerem CD14 była identyczna u owiec zakażonych i wolnych od BIV. Pomiedzy 10 a 48 tyg. pz notowano kilkukrotne, epizodyczne okresy wzrostu liczebności tych komórek u zwierząt zakażonych. Obserwowane różnice, z wyjątkiem 24 tyg. pz, nie były istotne statystycznie. Trudna jest interpretacja takiego zachowania monocytów w przebiegu zakażenia BIV, ale związane to może być z proliferacyjną odpowiedzią monocytów na okresową, zwiększoną replikację BIV. Krytyczną rolę w tym procesie odgrywać może unikalny interferon (LV-IFN), syntetyzowany przez limfocyty w następstwie zakażenia lentiwirusami, co wykazano na przykładzie zakażenia wirusem CAEV (18).

Podsumowując można stwierdzić, że w przebiegu doświadczalnego zakażenia owiec wirusem BIV dochodzi do istotnej mobilizacji elementów komórkowego układu immunologicznego. Analiza tego układu jest przydatna do oceny wirusa BIV jako naturalnego patogenu bydła o nie wyjaśnionej do końca roli. Ponadto, owce są uznane jako dobry model biologiczny do badań nad wirusem białaczki bydła (BLV). Ze względu na częste występowanie u bydła w warunkach naturalnych łącznych zakażeń BIV/BLV model zakażenia owiec wirusem BIV może być przydatny do określenia roli BIV jako kofaktora leukomogenezy indukowanej przez BLV.

Piśmiennictwo

1. Belloc C., Polack B., Schwartz-Cornil I., Brownlie J., Levy D.: Bovine immunodeficiency virus: facts and questions. *Vet. Res.* 1966, 27, 395-402.
2. Carpenter S., Miller L., Alexandersen S., Whetstone C., VanDerMaaten M., Viuff B., Wannemuehler Y., Miller J. M., Roth J.: Characterization of early pathogenic effects after experimental infection of calves with bovine immunodeficiency-like virus. *J. Virol.* 1992, 66, 1074-1083.
3. Carpenter S., Waughn E., Yang J., Baccam P., Roth J., Wannemuehler Y.: Antigenic and genetic stability of bovine immunodeficiency virus during long-term persistence in cattle experimentally infected with the BIV R29 isolate. *J. Gen. Virol.* 2000, 81, 1463-1472.
4. Flaming K. P., Frank D., Carpenter S., Roth J.: 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.
5. Gonda M., Braun M., Carter S., Kost T., Bess J., Arthur L., VanDerMaaten M.: Characterization and molecular cloning of a bovine lentivirus related to human immunodeficiency virus. *Nature* 1987, 330, 388-391.

6. Heaton P., Johnstone P., Brownlie J.: Investigation of the cellular tropism of bovine immunodeficiency-like virus. *J. Gen. Virol.* 1998, 65, 33-40.
7. Hirai N., Kabeya H., Ohashi K., Sugimoto C., Onuma M.: Immunomodulatory effects of bovine immunodeficiency-like virus (BIV) – infection and mixed infection of BIV and bovine leukemia virus on sheep. *Jpn J. Vet. Res.* 1996, 44, 153-163.
8. Jacobs R. M., Smith H., Whedstone C., Suarez D., Jefferson B., Valli V.: Haematological and lymphocyte subset analyses in sheep inoculated with bovine immunodeficiency virus. *Vet. Res. Commun.* 1994, 18, 471-482.
9. Kuźmak J., Bicka L.: Występowanie przeciwciał dla wirusa nabytego braku odporności (BIV) u bydła w Polsce. *Medycyna Wet.* 1999, 55, 746-750.
10. Musey L., Hughes J., Segacker T., Shea T., Corey L., McElrath M.: Cytotoxic-T-cell responses, viral load and disease progression in early human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* 1997, 337, 1267-1274.
11. Onuma M., Koomoto E., Furuyama H., Yasutomi Y., Taniyama H., Iwai H., Kawakami Y.: Infection and dysfunction of monocytes induced by experimental inoculation of calves with bovine immunodeficiency-like virus. *J. Acq. Immun. Defic. Syn.* 1992, 5, 1009-1015.
12. Rovid A., Carpenter S., Roth J.: Monocyte function in cattle experimentally infected with bovine immunodeficiency-like virus. *Vet. Immunol.* 1995, 45, 31-34.
13. Smith H. E., Jacobs R., Mallard B.: Cell-mediated and humoral immunity in sheep exposed to bovine immunodeficiency-like virus. *Comp. Immun. Microbiol.* 1994, 17, 29-39.
14. Wherstone C., VanDerMaaten M., Black J.: Humoral immune response to the bovine immunodeficiency virus in experimentally and naturally infected cattle. *J. Virol.* 1990, 64, 3557-3561.
15. Whedstone C., Suarez D., Miller J. M., Pesch B., Harp J.: Bovine lentivirus induces early transient B cell proliferation in experimentally inoculated cattle and appears to be pantropic. *J. Virol.* 1997, 71, 640-644.
16. Willems L., Gatot J., Mammerickx M., Portetelle D., Burny A., Kerkhofs P., Kettmann R.: The YXXL signalling motifs of the bovine leukemia virus transmembrane protein are required for in vivo infection and maintenance of high viral loads. *J. Virol.* 1995, 69, 4137-4141.
17. Zhang S., Wood C., Xue W., Krukenberg S., Chen Q., Minocha H.: Immune suppression in calves with bovine immunodeficiency virus. *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 1997, 4, 232-235.
18. Zink C., Narayan O.: Lentivirus-induced interferon inhibits maturation and proliferation of monocytes and restricts the replication of caprine arthritis-encephalitis virus. *J. Virol.* 1989, 63, 2578-2584.

Adres autora: doc. dr hab. Jacek Kuźmak, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: jkuzmak@piwet.pulawy.pl

STAN ZAKAŻNYCH CHOROBY ZWIERZĄT W POLSCE,

według danych Głównego Inspektoratu Weterynarii w październiku 2000 r.*)

- 1) **Wścieklizna zwierząt domowych** – wystąpiła w 9 województwach a mianowicie: kujawsko-pomorskim (3–5), lubelskim (6–9), łódzkim (1–1), mazowieckim (2–3), podkarpackim (1–1), podlaskim (1–3), pomorskim (1–1), świętokrzyskim (1–2), warmińsko-mazurskim (11–25). Wściekliznę stwierdzono u 9 psów, 17 kotów, 23 szt. bydła, 1 konia i 1 kozy.
- 2) **Wścieklizna zwierząt dzikich** – wystąpiła w 12 województwach: dolnośląskim (1–1) kujawsko-pomorskim (8–14), lubelskim (13–37), łódzkim (3–5), małopolskim (9–25), mazowieckim (13–23), podkarpackim (10–27), podlaskim (11–22), pomorskim (1–4), świętokrzyskim (9–27), warmińsko-mazurskim (14–45), wielkopolskim (3–6). Zanotowano ją u 198 lisów, 30 jenotów, 5 kun, 2 borsuków, 2 nietoperzy, 1 jelenia, 1 łosia i 1 tchórza.
- 3) **Wirusowe zapalenie tętnic koni** – wystąpiło w województwie łódzkim (1–1), świętokrzyskim (1–1) i wielkopolskim (1–2).
- 4) **Choroba Aujeszkiego u świń** – wystąpiła w województwie wielkopolskim (1–1).
- 5) **Salmoneloza świń** – wystąpiła w województwie kujawsko-pomorskim (1–1) i wielkopolskim (2–2).
- 6) **IBR/IPV** – wystąpiła w województwie wielkopolskim (1–1).
- 7) **Salmoneloza bydła** – wystąpiła w województwie wielkopolskim (1–1).
- 8) **Gorączka Q** – wystąpiła w województwie śląskim (1–1).
- 9) **Myksomatoza królików** – wystąpiła w województwie kujawsko-pomorskim (1–1), świętokrzyskim (3–3) i wielkopolskim (1–1).
- 10) **Zgnielec amerykański** – wystąpił w 3 województwach: małopolskim (1–1), wielkopolskim (1–1), i zachodnio-pomorskim (1–1).
- 11) **Zgnielec europejski** – wystąpił w województwie podlaskim (1–1).
- 12) **Salmoneloza drobiu** – wystąpiła w 11 województwach: dolnośląskim (4–5), kujawsko-pomorskim (2–2), lubelskim (2–2), lubuskim (6–10), łódzkim (4–4), małopolskim (2–3), mazowieckim (2–8), śląskim (3–3), świętokrzyskim (1–1), wielkopolskim (10–27), zachodniopomorskim (3–3).

*) w nawiasach podano liczbę powiatów i miejscowości, w których choroba została stwierdzona w okresie sprawozdawczym.