

# Podatność owiec różnych genotypów na zakażenie wirusem maedi-visna

ANNA KĘDZIORA, ANDRZEJ JUNKUSZEW\*, CZESŁAWA LIPECKA\*,  
TOMASZ M. GRUSZECKI\*, JACEK KUŹMAK

Zakład Biochemii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy  
\*Katedra Hodowli Owiec i Kóz Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt AR, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

Kędziora A., Junkuszew A., Lipecka C., Gruszecki T. M., Kuźmak J.

## Susceptibility of sheep of different genotype to maedi visna virus infection

### Summary

The aim of this study was to investigate the relationship between breed-associated susceptibility/resistance of sheep to infection with maedi visna virus (MVV) and sheep genotype represented by two races: Suffolk and Polish Lowland Sheep (PLS), as well as four crossbreeds: RB (Berrichone du Cher, Polish Lowland Sheep, Romanov, Olkuska), RS (Suffolk, Polish Lowland Sheep, Romanov, Olkuska), BCP (Polish Lowland Sheep, Charolaise, Berrichone du Cher, Romanov, Olkuska), SCP (Polish Lowland Sheep, Charolaise, Suffolk, Romanov, Olkuska). A total of 521 sheep were used in this study and tested by ELISA for the presence of specific antibodies to p25 and gp40 proteins of MVV. Seroconversion was found in 41 (53.2%) Suffolk and 20 (23.5%) PLS sheep and the differences were statistically significant ( $p \leq 0.01$ ), indicating a higher susceptibility of Suffolk sheep to MVV. Specific antibodies were also detected in 24 (31.6%) animals of genotype RB, 38 (48.7%) RS, 25 (22.7%) BCP and 20 (21.6%) SCP. Further analysis of revealed significant differences ( $p \leq 0.01$ ) between MVV seroprevalence of Suffolk sheep and RB, BCP, SCP sheep, i.e. crossbreed sheep with a lack or minimal distribution of Suffolk genotype. Significant differences were also found between MVV seroprevalence of PLS sheep and RS sheep which represents animals with the highest distribution of Suffolk genotype. These results provide evidence that susceptibility and resistance of sheep to MVV infection is associated with Suffolk and PLS race, respectively. This might allow generating breed-related sheep resistant to MVV infection.

**Keywords:** maedi visna virus, sheep

Choroba maedi-visna jest przewlekłą chorobą zakaźną wywołaną przez wirus Maedi Visna Virus (MVV) z rodzaju *Lentivirus*, rodziny *Retroviridae*. Dla choroby charakterystyczne jest postępujące śródmiąższowe zapalenie płuc, połączone z wychudzeniem oraz długo rozwijające się zapalenie mózgu i rdzenia. Dodatkowo, stwierdza się stany zapalne gruczołu mlekowego i stawów oraz rodzenie słabych jagniąt. Choroba ma zasięg światowy i notowana jest głównie w krajach Ameryki Północnej i Afryki Południowej oraz w krajach europejskich (13). Jedynymi krajami uznanymi za wolne od MVV są Australia i Nowa Zelandia. Chorobę po raz pierwszy stwierdzono w Islandii w 1933 r. u owiec rasy karakuł importowanych z Niemiec (12). W Polsce pierwsze przypadki opisano w 1975 r. przez Zadurę i wsp. (14), natomiast w 1993 r. Salwa i Węgrzyn (10) wyizolowali z leukocytów krwi obwodowej i eksplantów płuc chorych owiec lokalne szczepy MVV. Przeprowadzone ostatnio przez Kuźmaka i wsp. (8) badania serologiczne owiec z 12 stad, zlokalizowanych w różnych regionach Polski, wykazały wysoki odsetek seroreagentów, wynoszący średnio 60%. Choroba podlega obowiązkowi zgłaszania

i umieszczona jest na liście B OIE. Wymierne straty ekonomiczne wywołane chorobą maedi-visna, brak profilaktyki swoistej oraz fakt, że zakażone zwierzęta są nosicielami wirusa przez całe życie powodują, że w wielu krajach stosowane są programy uzdrawiania stad. Polegają one na określeniu statusu serologicznego badanych zwierząt, najczęściej w oparciu o test immunodyfuzji w żelu agarozowym oraz test immunoenzymatyczny ELISA, izolacji osobników uznanych za zakażone i w następnej kolejności eliminowaniu ich z hodowli.

W ostatnich latach w hodowli owiec na świecie notuje się tendencję do tworzenia populacji syntetycznych charakteryzujących się takimi cechami, jak: wysoka plenność, mleczność oraz mięsność. Praca ta prowadzona jest w oparciu o krzyżowanie różnych ras owiec reprezentujących odpowiednie cechy fenotypowe. Nieznana jest jednak podatność tak otrzymanych linii syntetycznych, jak i ras czystych na zakażenie MVV. Z badań niektórych (5, 6) autorów wynika, że istnieje związek pomiędzy niektórymi rasami owiec a podatnością czy też opornością na zakażenie i rozwój choroby. Ustalenie powyższej zależności pozwo-

liłoby uzyskać drogą hodowlaną zwierzęta odporne lub mniej wrażliwe na zakażenie MVV i ograniczyć straty związane z występowaniem choroby.

Celem pracy było określenie zależności pomiędzy występowaniem swoistych przeciwciał dla MVV a genotypem owiec u zwierząt poddanych ekspozycji MVV w warunkach zakażenia naturalnego.

### Materiał i metody

**Zwierzęta.** Badania wykonano w Stacji Dydaktyczno-Badawczej Małych Przeżuwaczy w Bezku należącej do AR w Lublinie. Do badań użyto owiec następujących genotypów: czysto rasowe zwierzęta rasy suffolk oraz polską owcą nizinną (pon), mieszańce RB (50% berrichone du cher, 25% pon, 25% rasa plenna – romanowska lub olkuska, RS (50% suffolk, 25% pon, 25% rasa plenna – romanowska lub olkuska, oraz zwierzęta nowo tworzonej syntetycznej plenno-mięsnej linii owiec BCP (37,5% pon, 25% charolaise, 25% berrichone du cher, 12,5% rasa plenna – romanowska lub olkuska oraz SCP (37,5% pon, 25% charolaise, 25% suffolk, 12,5% rasa plenna – romanowska lub olkuska. Łącznie w badaniach uwzględniono 521 owiec, przy czym liczba zwierząt reprezentujących poszczególne rasy lub linie wahała się od 76 do 100. Wszystkie owce utrzymywane były w jednakowych warunkach, bez podziału na grupy. Wiek zwierząt wynosił od 1 do 7 lat.

**Badania serologiczne.** Swoiste przeciwciała w próbkach surowicy krwi oznaczano komercyjnym zestawem ELISA MVV produkcji Instytut Pourquier (Francja). Test pozwala na wykrywanie przeciwciał dla białka rdzenia 25 i białka transmembranowego gp40 MVV. Oznaczenia wykonywano wg wskazań producenta, a odczyt prowadzono w czytniku ELISA (Dynatech MR 5000) przy długości fali 450 nm.

**Analiza wyników.** W celu określenia związku pomiędzy występowaniem odczynów dodatnich w kierunku MVV a genotypem zastosowano test  $\chi^2$ . Analizowano różnice w występowaniu przeciwciał u owiec dwóch ras czystych, a ponadto porównywano je z dwiema liniami syntetycznymi oraz dwiema grupami mieszańców. Jako poziom istotności przyjęto  $p \leq 0,01$ .

### Wyniki i omówienie

W tab. 1 zestawiono wyniki oznaczania przeciwciał dla MVV w surowicy krwi owiec reprezentujących dwie rasy czyste, dwie grupy mieszańców oraz dwie linie syntetyczne. Ogółem w badaniu 521 owiec obecność swoistych przeciwciał stwierdzono u 32,2%. Spośród 77 owiec rasy suffolk i 85 rasy pon odczyny dodatnie zanotowano u 53,2% i 23,5% zwierząt i różnica pomiędzy tymi wartościami była istotna statystycznie ( $p \leq 0,01$ ). U owiec mieszańców o genotypie RB spośród 76 badanych zwierząt, wyniki dodatnie stwierdzono u 31,6%, natomiast u 78 owiec genotypu RS występowanie przeciwciał stwierdzono u 48,7%. Badanie owiec linii syntetycznych wykazało niższy odsetek seroreagentów, bowiem przeciwciała u owiec BCP występowały u 22,7% spośród 110 badanych, a SCP u 21,0% spośród 95 badanych zwierząt.

Opierając się na fakcie, że w badanych czterech genotypach udział cech rasy suffolk lub pon był zróżni-

Tab. 1. Występowanie przeciwciał dla MVV w surowicy krwi owiec

Rasa i genotyp		Liczba owiec			Udział ras w genotypie (%)	
		ogółem	serologicznie dodatnich	%	suffolk	pon
Rasa	suffolk	77	41	53,2	100	0
	pon	85	20	23,5	0	100
Genotyp	RB	76	24	31,6 <sup>x</sup>	0	25,0
	RS	78	38	48,7 <sup>xx</sup>	50	25,0
	BCP	110	25	22,7 <sup>x</sup>	0	37,5
	SCP	95	20	21,0 <sup>x</sup>	25	37,5

Objaśnienia: <sup>x</sup> różnice statystycznie istotne ( $p \leq 0,01$ ) w odniesieniu do rasy suffolk, <sup>xx</sup> różnice statystycznie istotne ( $p \leq 0,01$ ) w odniesieniu do rasy pon

cowany, w kolejnym etapie badano związek pomiędzy występowaniem odczynów dodatnich między tymi populacjami. W odniesieniu do rasy suffolk taka analiza wykazała statystycznie istotną różnicę ( $p \leq 0,01$ ) w przypadku genotypów RB, BCP i SCP, natomiast jej brak w odniesieniu do genotypu RS. Wynikało to z faktu, że porównywany odsetek seroreagentów był podobny, różnica między grupą suffolk a RS wynosiła 4,5 jednostki procentowej. Obserwowano zatem wyraźny związek rasy suffolk z większą podatnością owiec na zakażenie MVV, bowiem u owiec genotypu RS, w którym udział cech tej rasy wynosi 50%, stwierdzono najwyższy odsetek seroreagentów spośród wszystkich ocenianych genotypów. Podobną analizę przeprowadzono odnośnie do rasy pon, która reprezentuje populację owiec o znacznie niższym odsetku seroreagentów niż rasa suffolk. Wykazano statystycznie istotną różnicę ( $p \leq 0,01$ ) jedynie w przypadku genotypu RS. Można to tłumaczyć tym, że odsetek owiec serologicznie dodatnich w tym genotypie był dwukrotnie wyższy niż u owiec rasy pon. W przypadku pozostałych genotypów (RB, BCP i SCP) nie odnotowano różnic, a najniższy odsetek seroreagentów spośród wszystkich czterech genotypów notowany u BCP i SCP, był ściśle skorelowany z najwyższym, 37,5% udziałem rasy pon. Może to wskazywać na większą oporność rasy pon na zakażenie MVV.

W przeprowadzonych badaniach wykazano dużo większą oporność owiec rasy pon niż rasy suffolk na zakażenie MVV, co manifestowało się istotną statystycznie różnicą w odsetku seroreagentów reprezentujących zarówno czyste rasy, jak i linie genetyczne będące, między innymi, krzyżówkami tych ras. Fakt, że 37,5% udział rasy pon w genotypie BCP i SCP spowodował prawie dwukrotne obniżenie liczby zwierząt zakażonych w porównaniu z genotypem RS, w którym rasa pon miała 25% udział, wskazuje na związek tej rasy z przekazywaniem oporności na zakażenie MVV. Z drugiej strony, stwierdzono, że 50% udział rasy suffolk w genotypie RS związany był z występo-

waniem swoistych przeciwciał aż u 48,7% osobników. Otrzymane wyniki trudno jest odnieść do analogicznych badań, ponieważ uwzględniają one oryginalne linie genetyczne RS, RB, BCP i SCP, będące krzyżówkami kilku ras. Są one natomiast porównywalne z wynikami badań Keena i wsp. (6), którzy wykazali trzykrotnie mniejszy odsetek seroreagentów wśród osobników będących krzyżówką rasy tak podatnej na MVV jak fińska w porównaniu z czystą rasą. Także wyniki 10-letnich obserwacji, w których owce należące do pięciu ras badano na obecność swoistych przeciwciał wskazały, że u zwierząt rasy ille de france odsetek zakażonych owiec wynosił tylko 5,6%, podczas gdy w całym stadzie wykryto przeciwciała aż u 37,9% zwierząt (5).

Przyпуска się, że powyższa zależność wynika z wrodzonej oporności osobników reprezentujących odpowiedni genotyp (12). Jako przykład posłużyć może hodowla owcy rasy fińskiej, która według badań przeprowadzonych w wielu krajach została uznana za rasę o zwiększonej podatności na zakażenie MVV w porównaniu z rasą ille de france, rambouillet czy columbia (4, 5). W badaniach przeprowadzonych w USA i Europie z użyciem owiec tej rasy, jak i rasy texel wielokrotnie notowano najwyższy odsetek seroreagentów (6, 12). Zmniejszoną wrażliwość na zakażenie MVV wykazano również w krajowych hodowlach owiec rasy merynos, w których notowano ponad 6-krotnie mniejsze straty w porównaniu z owcą pomorską (7). Z badań prowadzonych w Niemczech w latach 1970-2000, w których użyto czterech ras owiec (texel, fińska, ille de france oraz merynos krajowy) jedynie u rodzimej rasy merynos nie stwierdzono objawów klinicznych choroby maedi, co wynikać może z większej oporności na zakażenie wirusem lub być spowodowane powolniejszym rozwojem zmian patologicznych. Zjawisko to obserwowano u czystej rasy border leicester, u której w porównaniu z rasą columbia notuje się ostrzejszy przebieg i częstsze stany zapalne płuc i stawów oraz charakterystyczne tylko dla rasy border leicester zapalenie naczyń krwionośnych (3). Warto również wspomnieć, że krzyżówki ras podatnych na zakażenia z rasami bardziej opornymi (ille de france × owca fińska) mogą nie zmniejszać wrażliwości na zakażenie MVV. Sugerować to może fakt obecności jednego lub więcej genów recesywnych, odpowiedzialnych za występowanie zwiększonej podatności na zakażenie (1).

Jak się przypuszcza, oporność względnie wrażliwość na zakażenie MVV związana z rasą owiec ma podłoże genetyczne i regulowana jest antygenami głównego układu zgodności tkankowej (MHC) klasy I i II. Jakkolwiek do tej pory nie zidentyfikowano alleli decydujących o większej oporności lub wrażliwości na zakażenie MVV, to wyniki modelowych badań owiec zakażonych innym retrowirusem, wirusem białaczki bydła (BLV), dowiodły istnienia alleli OLA-DRBI związanych z występowaniem oporności na zakażenie BLV (9). U osobników z obecnością takich genów

notowano brak przewlekłej limfocytozy, silnie wyrażoną odporność komórkową i całkowitą eliminację BLV po 28 tygodniach po zakażeniu. Wydaje się, że podobne badania ukierunkowane na selekcję owiec opornych na zakażenie MVV pozwoliłyby w przyszłości na uzyskanie osobników niewrażliwych na zakażenie, względnie nie wykazujących objawów klinicznych choroby.

## Podsumowanie

Stosowanie programów uzdrawiania stad opartych na eliminowaniu zwierząt zakażonych jest niewątpliwie skutecznym sposobem walki z chorobą, to jednak biorąc pod uwagę związane z tym wysokie koszty, uzasadnione wydaje się opracowanie metod alternatywnych pozwalających na ograniczenie rozprzestrzeniania MVV. Do takich zaliczyć można otrzymanie transgenicznym owiec z ekspresją białka otoczki MVV i możliwością wykorzystania go jak immunogenu (2) oraz selekcję osobników, które ze względu na genotyp są w większym stopniu odporne na MVV. Wykorzystanie w hodowli takich zwierząt pozwoliłoby na zmniejszenie kosztów związanych z diagnostyką zakażeń, padnięciami oraz restrykcjami w obrocie zwierząt.

## Piśmiennictwo

1. Brodie S. J., Bermejillo A., Snowden G. D., De Martini J. C.: Current concepts in the epizootiology, diagnosis and economic importance of ovine progressive pneumonia in North America: a review. *Small Ruminant Res.* 1998, 27, 1-17.
2. Clement J., Wall R., Narayan O., Hauer D., Schoborg R., Sheffer D., Powell A., Carruth L., Zink M., Rexroad E.: Development of transgenic sheep that express the visna virus envelope gene. *Virology* 1994, 200, 370-380.
3. Cutlip R. C., Lehmkühl H. D.: Eradication of ovine progressive pneumonia from sheep flocks. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1986, 186, 1026-1027.
4. Gates N. L., Winward L. D., Gorham J. R., Shen D. T.: Serologic survey of prevalence of ovine progressive pneumonia in Idaho range sheep. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1978, 173, 1575-1577.
5. Houwers D. J.: Importance of ewe/lamb relationship and breed in the epidemiology of maedi-visna virus infections. *Res. Vet. Sci.* 1989, 46, 5-8.
6. Keen J. E., Hungerford L. L., Wittum T. E., Kwang J., Littlelike E. T.: Risk factors for seroprevalence of ovine lentiviruses in breeding ewe flocks in Nebraska, USA. *Prev. Vet. Med.* 1997, 30, 81-94.
7. Kopczeński A., Salwa A., Baczyński Z.: Struktura i sezonowość strat owiec rasy pomorskiej i merynos wywołanych przez adenomatozę i chorobę maedi. *Medycyna Wet.* 1987, 42, 673-677.
8. Kuźmak J., Rola M., Kozaczyńska B.: Ocena metod serologicznych w diagnostyce zakażeń wirusem maedi-visna u owiec. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 444-447.
9. Naganka Y., Kabeya H., Onuma M., Kasai N., Okada K., Aida Y.: Ovine MHC class II DRB1 alleles associated with the resistance or susceptibility to development of bovine leukemia virus - induced ovine lymphoma. *Cancer Res.* 1999, 59, 975-981.
10. Salwa A., Węgrzyn G.: Izolacja wirusa maedi visna owiec w Polsce. *Medycyna Wet.* 1993, 49, 298-300.
11. Silhonen L., Nuotio L., Rikula U., Hirvela-Koski V., Kokkonen U. M.: Preventing the spread of maedi-visna in sheep through a voluntary control programme in Finland. *Prev. Vet. Med.* 2000, 47, 231-220.
12. Snowden G. D., Gates N. L., Glimp H. A., Gorham J. R.: Prevalence and effect of subclinical ovine progressive pneumonia virus infection on ewe wool and lamb production. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1990, 4, 475-479.
13. Straub O. C.: Maedi-visna virus infection in sheep. History and present knowledge. *Comp. Immun. Microbiol. Infec. Dis.* 2004, 27, 1-5.
14. Zadura J., Czakata S., Roszkowski J.: Postępowe zapalenie płuc u owiec (choroba Maedi). *Medycyna Wet.* 1975, 8, 474-476.