

JAN F. ŻMUDZIŃSKI, ZYGMUNT PEJSAK  
Puławy

## II Kongres Europejskiego Towarzystwa Wirusologów Weterynaryjnych – European Society for Veterinary Virology (E.S.V.V.)

Europejskie Towarzystwo Wirusologów Weterynaryjnych zostało utworzone w 1988 r. Jego celem jest rozwijanie badań, szkolenie personelu i praktyczne zastosowanie wirusologii weterynaryjnej w Europie. E.S.V.V. jest do pewnego stopnia analogiem Amerykańskiego Towarzystwa Wirusologicznego, chociaż to ostatnie ma bardziej uniwersalny charakter. Pierwszy Kongres E.S.V.V. zgromadził 230 uczestników i odbył się w Liège w Belgii w dniach 5–7 kwietnia 1989 r. pod hasłem „Wkład biologii molekularnej do wirusologii weterynaryjnej”. Drugi Kongres E.S.V.V. zgromadził 250 pracowników naukowych reprezentujących różne ośrodki badawcze w 30 krajach Europy oraz Australii, Azji, Indonezji i USA, i odbył się w Uppsali, Szwecja, w dniach 23–26 września 1991 r. Hasło przewodnie II Kongresu, to: „Molekularne, wirusologiczne i immunologiczne aspekty patogenezы chorób wirusowych”. W trakcie Kongresu odbyło się 8 sesji plenarnych poświęconych następującym zagadnieniom:

- wirusom powodującym niedobory immunologiczne,
- patogenezie zakażeń wirusowych na poziomie molekularnym,
- nowym poglądom na patogenezę chorób wirusowych,
- nowym chorobom — gąbczasta encefalopatia bydła (BSE), rozrodzo-oddechowy zespół chorobowy u świń (PRRS),
- afrykańskiemu pomorowi koni,
- wirusom niższych kręgowców (ryby),
- interakcji między wirusem a gospodarzem,
- immunologicznym aspektem w patogenezie chorób wirusowych.

Ponadto uczestnicy Kongresu obradowali w 5 sesjach okrągłego stołu nt.:

- epizootologii i zwalczania choroby Aujeszkyego,
- epizootologii i zwalczania wścieklizny,
- pomoru królików,
- choroby Gumboro,
- zakażeń Morbillivirusami u ssaków morskich.

Ogółem przedstawiono na Kongresie 143 doniesienia. Polskę reprezentowało 4 pracowników naukowych (2 pracowników Instytutu Weterynarii w Puławach i 2 pracowników Uniwersytetu Gdańskiego), którzy przedstawili 2 doniesienia.

W zakresie chorób wirusowych trzody chlewnej wiele doniesień poświęcono chorobie Aujeszkyego. Autorzy belgijscy wykazali, że wirus choroby Aujeszkyego (ADV) może być przyczyną poronień u loch uodpornianych przeciwko tej chorobie. Stwierdzono, że przyczyną tego zjawiska jest zdolność niektórych szczepów ADV używanych do produkcji szczepionek do przenikania bariery łożyskowej. Wirus ADV mogą przenosić makrofagi i ten właśnie sposób „transportu” wirusa związanego z komórką odgrywa zasadniczą rolę w patogenezie poronień. Lomniczi (Węgry) wykazał, że nawet kilkuletnie stosowanie szczepień z użyciem szczepionek atenuowanych ADV nie pozwalało na uwolnienie stad od wirusa zjadliwego (terenowego). W stadach świń, w których stosowano szczepionkę nie w pełni inaktywowaną stwierdzono szczególnie intensywne krążenie wirusa terenowego. Badacze francuscy przedstawili wyniki oce-

ny 11 różnych szczepów ADV używanych do produkcji szczepionek. Były to szczepy wykazujące delecje w zakresie genów kodujących białka gI, gII, gIII, gp50 lub szczepy nie posiadające delecji. Wykazano zróżnicowaną efektywność ocenianych szczepionek, bowiem ilość wirusa wydalanego po zakażeniu doświadczalnym była bardzo różna. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy ilością wydalanego wirusa ADV po zakażeniu kontrolnym a zahamowaniem przyrostów masy ciała świń.

Kimman i wsp. (Holandia) opisali rolę poszczególnych genów krótkiego regionu (Us) genomu ADV oraz znaczenie glikoprotein kodowanych przez te geny. Wykazali oni, że glikoproteina gI nie odgrywa istotnej roli w procesie namnażania się wirusa, ale determinuje jego neurowirulencję; glikoproteina gX nie jest konieczna do replikacji wirusa w komórkach, nie determinuje również jego zjadliwości. Białko PK nie uczestniczy w cyklu namnażania się ADV, determinuje natomiast jego zjadliwość. Glikoproteina gp50 jest niezbędna do replikacji ADV oraz wpływa na zdolność wnikania wirusa do komórki. Glikoproteina gp63 determinuje zjadliwość ADV. Wykazano, że wszystkie warianty/mutanty ADV indukowały powstawanie swoistych przeciwciał neutralizujących oraz całkowitą lub częściową ochronę przed zakażeniem kontrolnym.

Glazenburg i wsp. (Holandia) wykazali, że replikacja ADV może być regulowana, a zjadliwość wirusa modyfikowana poprzez kontrolowanie ekspresji genu wczesnego.

Kochan i wsp. (Polska) przedstawili zasady konstrukcji sondy DNA znakowanej biotyną, umożliwiającej różnicowanie terenowych szczepów ADV. Używając tej sondy wykazano, że wszystkie izolowane w Polsce szczepy ADV należą do genotypu I, a stwierdzone niewielkie przesunięcie fragmentu 7 dowodzi niewielkiego zróżnicowania szczepów terenowych.

Haralambiew i wsp. (Bułgaria) wykazali, że test śródskórny przeprowadzony na królikach może być markerem określającym stopień atenuacji ADV.

Wiele uwagi poświęcono pomorowi klasycznemu świń (HC). Roehe i wsp. (Wielka Brytania) wyizolowali od świń pestiwirus, który antygenowo wykazywał większe pokrewieństwo z wirusem choroby granicznej owiec (BD) niż z wirusem biegunki bydła (BVD), czy wirusem pomoru klasycznego świń (HCV). Wyizolowany pestiwirus zakażał świnię i owcę i przechodził przez barierę łożyskową u samicy obu gatunków zwierząt. Badania porównawcze sekwencji nukleotydów części genomu wyosobnionego pestiwirusa wykazały 87% homologię z wirusem BD, 74% homologię z wirusem BVD i 73% homologię z wirusem HC.

Thiel i wsp. (Niemcy) stwierdzili, że białko nukleokapsydu wirusa HC jest cząstką o masie 14 kDa (HCV p14). Otoczka HCV zbudowana jest z trzech glikoprotein gp44/48, gp33 i gp55. Co najmniej dwie z tych glikoprotein zlokalizowane są na powierzchni wirusa i stymulują powstawanie przeciwciał neutralizujących. Podjednostki te połączone są mostkami dwusiarczkowymi tworząc homo- (gp44/48 i gp55) i heterodimery (gp55 z gp33). Jak dotychczas takich interakcji pomiędzy struktural-

nymi glikoproteinami nie opisano w przypadku żadnego z wirusów RNA.

Rijn i wsp. (Holandia) zaprezentowali wyniki mapowania epitopów białka otoczkowego E1 HCV. Białko E1 posiada trzy epitopy A, B i C, przy czym epitop A występuje u wszystkich wirusów HC. Epitopy B i C nie są konserwatywne i występują np. w szczepie chińskim HCV.

W zakresie wirusowych chorób koni zaprezentowano 6 doniesień. Przedstawiono dokładną dokumentację przebiegu afrykańskiego pomoru koni w Hiszpanii w okresie od 1966 do listopada 1990 r. (Rodríguez i wsp. Hiszpania). Przedstawiono wyniki badań porównawczych testów immunoprecypitacji i ELISA dla niedokrwistości zakaźnej koni wykazując, że antygen oraz test ELISA produkowane przez TEC America pozwalają uzyskać bardziej wiarygodne wyniki niż antygen Pitmann Moore i ELISA Clark (Bürki i wsp. Austria).

Do badań nad wirusem grypy zastosowano elektroforezę wirusowego RNA. Używając kombinacji dwóch metod elektroforezy w żelu poliakrylamidowym oraz izotachoforezy można łatwo izolować poszczególne z 8 segmentów wirusowego DNA (Abusugra i wsp. Szwecja). Wykazano dobrą skuteczność szczepionki zawierającej ISCOM przeciwko grypie koni (Mumford i wsp. Wielka Brytania).

Hyllseth i wsp. (Norwegia) stwierdzili, że zakażenie wirusem arteritis ogierów nie wpływa w negatywny sposób na wyniki rozrodu.

Klingeborn i wsp. (Szwecja) zastosowali podwójną reakcję polimeryzacji łańcuchowej kwasu nukleinowego (PCR) do wykrywania wirusa arteritis w hodowli komórek i nasieniu ogierów. Pojedynczy cykl PCR nie osiągał czułości testu izolacji wirusa arteritis.

Rimstad i wsp. (Norwegia) zastosowali PCR oraz test enzymatyczny z biotyną-awidyną do wykrywania herpeswirusa końskiego typ I (EHV1) w formalinizowanych próbkach narządów wewnętrznych poronionych płodów.

W zakresie chorób wirusowych bydła przedstawiono 34 doniesienia: 7 na temat zakażeń BVD, 7 dotyczących białaczki bydła, 5 traktujących o zakażeniach BHV1 (IBR/IPV), 3 w zakresie pryszczycy, po 2 na temat BSE, zakażeń RSB, zakażeń BHV4, zakażeń koronawirusami oraz po jednym na temat głowicy, maedi-visna owiec, zapalenia stawów i encephalitis kóz, zakażenia rotawirusem, skuteczności szczepionki przeciwko chorobie niebieskiego języka.

W doniesieniach nt. BVD omawiano przebieg zakażeń u bydła w północnej Hiszpanii, zastosowanie testu ELISA do diagnostyki BVD, obniżenie poziomu hormonów tarczycy w przebiegu zakażeń BVD i z tym związane opóźnienie wzrostu. Stwierdzono, że szczepy cytotagenne BVD wykazują podwojenie fragmentu 2384 par nukleotydów oraz insert 366 nukleotydów w genomie wirusowym. Wirus BVD namnażał się i wykrywano go w hodowli komórek mózgowia: neuronach, astrocytach i komórkach zawierających fibronektynę.

W doniesieniach dotyczących białaczki bydła (BLV) porównano wyniki testów precypitacji w żelu agarowym, ELISA i PCR wskazując na wysoką zgodność ww. testów. Zastosowano test ELISA do wykrywania zakażeń BLV poprzez badanie surowicy zwierząt i mleka. Opisano próbę użycia krótkoterminowych hodowli limfocytów zakażonego bydła jako szczepionki w profilaktyce BLV.

Doniesienia nt. BHV1 (IBR/IPV) dotyczyły diagnostyki immunoenzymatycznej i odpowiedzi immunologicz-

nej w zakażeniach tym wirusem. Porównano mapy restrykcyjne DNA herpeswirusów BHV1, CerHV1 i RHV1. Wskazano na występowanie mutantów opornych na neutralizację przeciwciałami monoklonalnymi w populacji BHV1. Eksperymentalne zakażenie krów i kóz BHV1 wykazało dużą wrażliwość krów, podczas gdy u kóz nie zaobserwowano żadnej reakcji klinicznej. Przy zakażeniu eksperymentalnym CapHV1 (kozi herpeswirus) objawy kliniczne zaobserwowano u kóz, a cielęta pozostały zdrowe. Autorzy sugerują gatunkową specyficzność BHV1 (bydło duże) i CapHV1 (kozy).

Nie wykazano genetycznej predyspozycji bydła do zachorowań z objawami BSE. W przypadku scrapie owiec w eksperymentach na myszkach wykazano, że nie ma różnicy w ilości białka PrP w komórkach mózgowia. Stwierdza się natomiast istotną dyslokację tegoż białka we wspomnianych komórkach.

Odnośnie do wirusa pryszczycy wykazano, że pierwotnym miejscem replikacji wirusa są u bydła migdałki, podniebienie miękkie, śluzówka gardła, tchawicy i oskrzeli oraz płuca. Wirus pryszczycy nie namnażał się w śliniankach, gruczołach dokrewnych, narządach wewnętrznych i węzłach chłonnych. Określono, że na powierzchni wirusa pryszczycy występują 4 grupy epitopów. Pierwsza grupa obejmuje 6 epitopów, druga dwa, w grupie trzeciej i czwartej stwierdzono po jednym epitopie.

W badaniach nad RSB klonowano gen dla białka F RSB do wektora bakulowirusowego. Ekspresja białka F RSB u myszek powodowała odpowiedź immunologiczną i produkcję przeciwciał neutralizujących RSB.

W zakresie BHV4 wykazano, że genom tegoż wirusa zawiera 144 kbp dsDNA oraz zidentyfikowano 29 białek strukturalnych. BHV4 izolowano od małą, kotów oraz lwów w ZOO na Węgrzech.

W badaniach nad koronawirusem bydła używano insertu 2 kbp wybranego z zestawu cDNA, który obejmował geny kodujące białko M i N i używano tego fragmentu do testu hybrydyzacji. W ten sposób wykrywano 1–3 pg wirusowego RNA równoważnego  $2 \times 10^5$  genów.

Wykazano różnice zjadliwości różnych szczepów rotawirusa bydłowego, co wiązało się ze zdolnością do kolonizacji górnego i środkowego odcinka jelit.

W badaniach nad głowicą bydła wykazano, że szczepy izolowane od bydła mogą pochodzić od owczego herpeswirusa typ 2.

Zastosowano reakcję polimeryzacji łańcuchowej (PCR) do badania dryftu antygenowego wirusa zapalenia stawów i mózgowia kóz (CAE) oraz maedi-visna i określenia genetycznego podłoża zróżnicowanej patogenności tych szczepów. Przedstawiono wyniki badań porównawczych trzech metod wykrywania przeciwciał dla wirusa maedi-visna: ELISA, Blocking-ELISA i Western Blot. Żadna z zastosowanych metod nie zapewniała wysokiej czułości.

Sklonowano wszystkie geny kodujące 7 białek strukturalnych wirusa choroby niebieskiego języka (bluetongue) i wprowadzono je do bakulowirusa jako wektora. Uzyskano ekspresję wymienionych genów w komórkach owadów i zastosowano otrzymane białko jako szczepionkę.

Wścieklicznie poświęcono 5 doniesień. Wykazano, że gen L wirusa wściekliczyny koduje wielofunkcyjną polimerazę RNA o masie 240 kDa odpowiedzialną za replikację wirusowego genomu i transkrypcję wirusowego

mRNA. Częstki defektywne wirusa wścieklizny zawierały pojedynczą, dużą delecję w obrębie genu L. Stwierdzono, że przeciwciała monoklonalne dla glikoproteiny wirusa wścieklizny szczep „Wnukowo 32” posiadały zdolność neutralizacji 27 wirusów należących do podrodziny *Lyssavirinae* łącznie ze szczepami ulicznymi, arktycznymi, *Mokola*, *Lagos*, *Duvenhage*, przy czym indeks neutralizacji wahał się od 3,34 do 7,34 log LD<sub>50</sub>. 7 przeciwciał monoklonalnych dla białek nukleokapsydu pozwalało na różnicowanie różnych szczepów *Lyssavirinae* w odczynie immunofluorescencji.

Wykazano, że szczepy wirusa wścieklizny izolowane na wyspach należących do Estonii są ok. 10-krotnie mniej zjadliwe dla myszek przy podaniu domięśniowym niż szczepy izolowane w Finlandii. U myszek szczepionych izolatami estońskimi nie stwierdzono przeciwciał dla wirusa wścieklizny.

Przedstawiono wyniki szczepień doustnych lisów z użyciem szczepionki rekombinowanej zawierającej wirus krowianki z wmontowanym genem dla glikoproteiny wirusa wścieklizny. Szczepionka ta wykazuje termostabilność (miano utrzymywało się ok. 1 miesiąca), wysoką skuteczność (84—92%) i pełną nieszkodliwość. Może to być doskonała wręcz alternatywa dla szczepów atenuowanych wirusa wścieklizny stosowanych dotąd do szczepień doustnych u zwierząt wolno żyjących.

W zakresie wirusów drobiowych przedstawiono 5 doniesień. Wykonano transfekcję komórek limfoblastoidalnych wirusem choroby Mareka (MDV). W komórkach tych uzyskano ekspresję specyficznych antygenów — fosforylowanych polipeptydów MDV i komórki te służyły jako komórki wskaźnikowe przy badaniu odporności komórkowej.

W ostatnim czasie zaobserwowano w Japonii częste przypadki zakaźnego zapalenia oskrzeli (IB) i z tym związanego zapalenia nerek u kur. Szczepy wirusa IB izolowane z tych przypadków różniły się antygenowo od szczepów zawartych w szczepionkach. cDNA amplifikowany w PCR uzyskany dla różnych szczepów IB pozwalał na sklasyfikowanie szczepów IB na 6 grup. Izolaty IB powodujące zapalenie nerek zakwalifikowano do oddzielnej grupy.

Opisano izolację wirusa niedokrwistości od kurcząt na Węgrzech. Zakażenie powodowało zejścia śmiertelne 7—8% brojlerów, a ok. 25% ptaków nie osiągało wagi rzeźnej w wieku 7 tyg.

Jako czynnik etiologiczny zapalenia stawów u kurcząt w Holandii wykryto reowirus. Choroba dotyczyła ptaków w wieku 4—5 tyg. i powodowała duże straty ekonomiczne (śmiertelność 2—8%, wzrost spożycia paszy).

W zakresie wirusowych chorób królików zaprezentowano 11 doniesień. Badacze włoscy uzyskali przeciwciała monoklonalne dla wirusa pomoru królików, które wykorzystano do porównania pokrewieństwa antygenowego wirusa pomoru królików i wirusa powodującego zachorowanie u zajęcy (EBHS). Użycie tych przeciwciał wykazało, że pomór królików i syndrom chorobowy występujący u zajęcy to dwie różne choroby, każda wywołana przez inny czynnik etiologiczny.

Z kolei badacze brytyjscy stwierdzili, że chorobę zającą powoduje mały wirus ściśle spokrewniony z kaliciwirusem pomoru królików. Choroba jest szeroko rozpowszechniona u zajęcy w Anglii, a czynnik etiologiczny krąży w populacji tych zwierząt od kilku lat.

Przeprowadzono sekwencjonowanie RNA genomu wirusa pomoru królików, wykazując obecność 7437 nukleotydów bez końca poly A. Genom zawiera jeden długi, otwarty zakres odczytu (ORF) obejmujący 2344 kodony kodujące białka niestrukturalne. Badania porównawcze wykazały homologię sekwencji aminokwasów białek niestrukturalnych wirusa pomoru królików i kaliciwirusa kotów.

Badania epizootologiczne w Austrii wykazały obecność przeciwciał dla wirusa pomoru królików w 80,4% surowic odłowionych zajęcy, ale typowy obraz anatomicopatologiczny dla tej choroby stwierdzono tylko u 3 zajęcy znalezionych jako martwe.

Wirus pomoru królików izolowany we Francji aglutynował erythrocyty człowieka grupy „0” w temp. +4°C przy pH 6,2 i posiadał morfologię kaliciwirusa oraz średnicę 30—35 nm. Białko główne wirionu miało masę 60 kDa, a pozostałe białka 40, 30, 20 kDa i były glikozylowane.

Opracowano test ELISA do wykrywania przeciwciał dla wirusa pomoru królików. Testem tym wykryto obecność przeciwciał w 19,4% surowic króliczych w Czechach-Słowacji.

Niezwykle ciekawe były również referaty wprowadzające do obrad poszczególnych sesji. Będą one opublikowane przez autorów *in extenso* w literaturze specjalistycznej. Na posiedzeniu ogólnym E.S.V.V. ustalono, że następny, III Kongres odbędzie się w Szwajcarii w 1993 r.

Adres autora: doc. dr habil. Jan F. Zmudziński, ul. Norwida 27/9, 24-100 Puławy

**MA LAREN I. M., WRAY C.: Epidemiologia zakażenia *Salmonella typhimurium* u cieląt: utrzymywanie się salmoneli w cielętnikach. (Epidemiology of *Salmonella typhimurium* infection in calves: persistence of salmonellae in calf unit).** Vet. Rec. 129, 461—462, 1991 (21)

*Salmonella typhimurium* DT 204 C jest najczęstszą przyczyną salmonelozy cieląt. W pięciu fermach odchowu cieląt wyosobniono szczepy różniące się profilami plazmidów (F, J, N, Q, 2). Zarazek utrzymywał się w środowisku od 4 miesięcy do 2 lat, średnio przez okres 14 miesięcy. Tak długie utrzymywanie się patogena w środowisku odgrywa istotną rolę w epidemiologii salmonelozy. Stosowane metody odkażania i sanizacji nie likwidują w pełni potencjalnego zagrożenia tym patogenem dla cieląt.

G.

**JACKSON G., BOUGHTON E.: Epidemia zapaleń gruczołu mlekowego o niewielkim nasileniu wywołana przez *Mycoplasma bovigenitalium*. (A mild outbreak of bovine mastitis associated with *Mycoplasma bovigenitalium*).** Vet. Rec. 129, 444—446, 1991 (20)

*Mycoplasma bovigenitalium* wyosobniono z próbek mleka 16 z 99 krów z jednej fermy krów mlecznych latem 1986 r. U jednej krowy wystąpiło zapalenie gruczołu mlekowego o ostrym przebiegu, u 4 krów zapalenie gruczołu mlekowego przebiegało w postaci łagodnej. U 3 krów występowały jedynie zmiany w wydzielinie zasuszonego gruczołu mlekowego. Jedenaście krów zakażonych było w okresie zasuszenia, a trzy urodziły przed 2 dniami. Wprowadzenie rygorystycznego przestrzegania zasad higieny doprowadziło do likwidacji zachorowań. W okresie 17 miesięcy mykoplazmy wyosobniono z gruczołu mlekowego 19 krów, *Acholeplasma* sp. wyizolowano od 14 krów. Obecność tych drobnoustrojów nie była jednakże związana z występowaniem zapaleń gruczołu mlekowego.

G.