

JAN RUŁKA, STANISŁAW KLIMENTOWSKI*, MARIA SZCZOTKA, JAN STEC**

Występowanie enzootycznej białaczki bydła (ebb) w warunkach naturalnego zakażenia stad wirusem parainfluenzy (PI₃)

Pracownia Patologii Komórkowej i **Zakład Biochemii Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy,

*Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

Summary

Occurrence of enzootic bovine leukosis in herds infected with parainfluenza virus (PI₃)

The rate of infection with BLV was assessed in 2053 cattle from 17 farms enzootically infected with PI₃. The animals were divided into 6 groups according to their age. The highest percentage (38.0 – 56.7) of the animals in all age groups had HI antibody titers from 1:80 to 1:320; the percentage of animals with the titers between 20 and 40 was 9.8 – 27.7. The HI titers decreased along with the age of the animals. The highest percentage of negative results (24.3 per cent) was noticed in calves aged between 6 months and 2 years. In 3-year-old animals the per cent of negative results was 11.9, in 4-5-year-old – 6.9, in cows 6-12-years-old between 5.6 and 2.2. The percentage of animals whose HI titers ranged from 1:640 to 1:5120 was 7.3 – 50 with a gradual increase with age.

The rate of seropositive animals for BLV also increased with the age of the animals and it was 28.3, 39.5, 48.0, 54.7, 61.0, 68.6 in reference to PI₃, respectively; in sero-negative groups of the animals the findings were 16.0, 26.2, 36.5, 48.4, 54.1 and 67.0. The results revealed a close correlation between the number of cattle infected with PI₃ and the number of the animals infected with BLV.

Enzootyczna białaczka bydła (ebb), wywołana przez oncornavirus typu C, jest chorobą zakaźną o przewlekłym przebiegu. Mimo powolnej etiologii, jest ona drugą pod względem epizootologicznym chorobą wśród pogłowia bydła. Badania Marshak i wsp. (29) oraz Smitha (40) wykazały, że wraz z wiekiem wzrasta liczba przypadków ebb u bydła. Autorzy ci wykazali, że pierwszy szczyt zachorowań przypada poniżej jednego roku życia, drugi w wieku 5 – 8 lat. Nie bez znaczenia są predyspozycje genetyczne zwierząt (12, 43). Ferrer i wsp. (12) podają, że niektóre linie bydła rasy Jersey są szczególnie podatne na zakażenia wirusem BLV (Bovine Leukemia Virus).

Przeprowadzone w Polsce badania nad ebb wskazują na różny stopień zakażenia pogłowia wirusem BLV (22). W zależności od regionu kraju, wielkości i struktury stada, białaczka bydła szerzy się zgodnie z regułami epizootii i nadal stanowi poważne zagrożenie w hodowli bydła (13, 14, 15, 21, 24-28). Szczególnie wysoki procent zakażeń (10-90%) notuje się w gospodarstwach południowo-zachodnich regionów Polski. Łosieczka i Klimentowski (28) podają, że w 1983 r. w województwie wrocławskim zbadano testem ID 4499 krów w 36 oborach wielkostadnych, uzyskując w poszczególnych stadach od 12% do 82% zakażeń wirusem BLV. W oborach o zamkniętym cyklu produkcji stopień zakażeń wahał się od 35% do 64%. Podobne wyniki uzyskali inni autorzy (m.in. 14-17, 20).

Drugą jednostką chorobową o szerokim rozprzestrzenieniu jest parainfluenza bydła. Wielu autorów wykazało, że liczba zwierząt z dodatnim mianem przeciwciał HI lub SN dla PI₃ wynosi od 53,8% do 94,5%, a nawet osiąga 100% (2, 8, 11, 21). Wobec tego wydaje się, że wirus PI₃ ma usposabiający wpływ na efektywność zakażenia zwierząt wirusem BLV.

Celem pracy jest wstępna analiza serologiczna występowania zakażeń bydła wirusem BLV wśród pogłowia zwierząt, zakażonego wirusem parainfluenzy – PI₃.

Materiał i metody

Zwierzęta. Badaniami objęto 2053 sztuki bydła rasy ncb z 17 gospodarstw uspołecznionych, pochodzących z różnych regionów Polski, zapowietrzonych wirusem parainfluenzy. W każdym z gospodarstw zwierzęta podzielono na 6 grup wiekowych: I grupę stanowiły cielęta i jałówki w wieku od 6 miesięcy do 2 lat, II – bydło do 3 lat, III – krowy 4-5 lat, IV – krowy 6-7 lat, V – krowy 8-9 lat i VI grupę – krowy w wieku 10-12 lat. Surowice do badań pobierano z żyły jarzmowej i przygotowywano je wg powszechnie znanej metodyki. W badaniach uwzględniono te zwierzęta, których dodatnie miano przeciwciał typu HI dla wirusa PI₃ ≥ 1:20. Miano 1:10 traktowano jako wynik ujemny.

Odczyn zahamowania hemaglutynacji – HI (Haemagglutination Inhibition). Wykonywano go z 0,75% krwinkami gęsi, stosując 4 jednostki hemaglutynacyjne wirusa PI₃. Wyniki przedstawiono w postaci średnich procentowych wartości poszczególnych mian dla wybranych grup wiekowych zwierząt.

Test ELISA. Wykonywano go wg metodyki podanej przez Steca i wsp. (41).

Wyniki i omówienie

Uzyskane rezultaty przedstawia tab. 1 i 2. Kontrola serologiczna wykazała, że w każdej grupie wiekowej najwyższa liczba wyników dodatnich była dla miana 1:80 – 1:320. Nieco niższy procent wyników dodatnich notowano dla miana 1:20 – 1:40. Wykazano, że malał on wraz z wiekiem zwierząt i wynosił: w grupie I – 27,7, w grupie II – 27,5, w III – 20,2, w IV – 13,0, w V – 17,6 i w VI – 9,8. Procent wyników ujemnych był najwyższy w grupie cieląt 6 miesięcy i jałówek do 2 lat i wynosił – 24,3, a w pozostałych grupach kształtował się odpowiednio: 11,9, 6,9, 5,6, 3,9 i 2,2. Odwrotną zależność notowano dla miana 1:640 – 1:5120: w grupie cieląt i jałówek procent dodatnich wyników wynosił 7,3, a dla bydła do 3 lat – 9,0. W pozostałych grupach od III do VI wynosił kolejno: 16,2, 30,2, 30,2 i 50,0%.

Wyniki kontroli przeciwciał swoistych dla wirusa BLV (test ELISA) przedstawia tab. 2. Uzyskane rezultaty analizowano w dwu aspektach: zwierzęta wykazujące przeciwciała – swoiste hemaglutyniny dla wirusa PI₃ i wolne od jego zakażenia.

Tab. 1. Wysokość miana przeciwciał HI dla wirusa PI₃ w zależności od wieku bydła w gospodarstwach uspołecznionych (miano dodatnie \geq 1:20)

Miano HI	% sztuk z dodatnim mianem HI dla PI ₃ w grupie:					
	I 6 m.-2 l.	II 3 l.	III 4-5 l.	IV 6-7 l.	V 8-9 l.	VI 10-12 l.
640-5120	7,3	9,0	16,2	30,2	30,2	50,0
80-320	40,7	51,6	56,7	51,2	48,3	38,0
20-40	27,7	27,5	20,2	13,0	17,6	9,8
ujemne i 1:10	24,3	11,9	6,9	5,6	3,9	2,2
Liczba zwierząt badanych	830	251	440	285	151	96

Przeprowadzone badania wykazały wyraźną zależność pomiędzy liczbą dodatnich wyników testu ELISA a wiekiem zwierząt. Zależność tę notowano zarówno u zwierząt wykazujących dodatnie miano przeciwciał HI, jak i u zwierząt wolnych od zakażenia wirusem PI₃. W stadzie zapowietrzonym wirusem PI₃ procent zwierząt z dodatnim mianem ELISA, w grupach I do VI wynosił kolejno: 28,3, 39,5, 48,0, 54,7, 61,0 i 68,6, zaś w stadzie wolnym od zakażenia PI₃ kształtował się odpowiednio: 16,0, 26,2, 36,5, 48,4, 57,1 i 67,0.

Wartość różnicy dla BLV w stadzie zapowietrzonym PI₃, w stosunku do stada wolnego od zakażenia wirusem PI₃, wynosiła od 3,9% do 13,3%. Najwyższe jej wartości notowano w grupie cieląt i jałówek do 2 lat oraz u bydła młodego do 3 lat – (+12,0% do +13,3%). U krów starych (10 – 12 lat) liczba dodatnich wyników testu ELISA była wyższa o 1,6% w grupie wolnej od zakażenia wirusem PI₃ w stosunku do zwierząt zapowietrzonych parainfluenzą.

Przedstawione badania wskazują na wyraźną korelację pomiędzy zakażeniem bydła wirusem parainfluenzy a liczbą dodatnich wyników testu ELISA dla przeciwciał anty BLV. Podobne obserwacje pomiędzy tymi dwoma wirusami notowali w badaniach eksperymentalnych na cielętach Rułka i wsp. (36). Autorzy ci podkreślają stymulujący wpływ zakażenia wirusem PI₃ na poziom odporności humoralnej u cieląt 6-8-miesięcznych, zakażonych równocześnie wirusem PI₃ i BLV. W badaniach tych stwierdzono, że cielęta zakażone wirusem BLV+PI₃ wykazywały wcześniejszą i silniejszą odpowiedź serologiczną (test ELISA), niż zakażone tylko wirusem BLV.

Tab. 2. Występowanie zakażeń wirusem białaczki bydła (BLV) w gospodarstwach uspołecznionych, zapowietrzonych wirusem PI₃, z uwzględnieniem wieku zwierząt

Wiek (lata)	PI ₃ +				PI ₃ -				Wartość różnicy (PI ₃ +) - (PI ₃ -) dla BLV +	Diagram		
	Liczba zwierząt ogółem	BLV +		BLV -		Liczba zwierząt ogółem	BLV +				BLV -	
		liczba	%	liczba	%		liczba	%			liczba	%
0,5-2	523	148	28,3	375	71,7	305	50	16,0	257	83,7	+12,0	
3	190	75	39,5	115	60,5	61	16	26,2	45	73,7	+13,3	
4-5	377	181	48,0	196	52,0	63	23	36,5	40	63,5	+11,5	
6-7	254	139	54,7	115	45,3	31	15	48,4	16	51,6	+6,3	
8-9	141	86	61,0	55	39,0	14	8	57,1	7	42,9	+3,9	
10-12	86	59	68,6	27	31,4	6	4	67,0	2	33,3	-1,6	
Razem	1571					482						

Podobne zjawisko obserwowano u myszy zakażonych wirusem krowianki i wirusem HSV typ 2 oraz wirusem białaczki (30). Zachorowalność myszy na białaczkę była tu o 20% wyższa, niż u myszy kontrolnych – zakażonych tylko wirusem białaczki. Wprowadzenie wymienionych wirusów myszom linii AKR powodowało u nich rozwój białaczki znacznie wcześniej i u większej liczby zwierząt, niż w grupie kontrolnej. Zakażenie myszy wirusem *Coxsackie* i wirusem *poliomyelitis* powodowało również zaostrenie procesu chorobowego (31).

Haremski i wsp. (18) z kolei wykazali, że bydło zakażone gruźlicą rzadziej choruje na białaczkę. U krów gruźliczych stwierdzono średnio 12,3 przypadka na 1000 sztuk bydła, natomiast u krów wolnych od gruźlicy zachorowalność ta wynosiła 24,9. Autorzy podkreślają równocześnie stosunkowo małą skłonność do uogólnienia się procesu gruźliczego i do reinfekcji u krów z gruźlicą i białaczką. Jak podkreśla wielu autorów (1, 4-7, 23, 35, 37, 39, 45), szczególnie ważnym elementem w patogenie wirusa PI₃, a tym samym w obniżeniu funkcji obronnych układu oddechowego, jest niszczenie rzęsek i nabłonka oddechowego (6), obniżenie cytotoksyczności makrofagów (35), obniżenie fagocytozy oraz niszczenie bakterii przez makrofagi pęcherzykowe (4, 23, 39). Badania Johnsona i Moreina (19) wskazują na bezpośredni efekt stymulacji limfocytów krwi obwodowej wirusem PI₃. Autorzy ci wykazali, że wirus parainfluenzy poddany działaniu promieni UV wywoływał lepszą stymulację blastogenezy i podziałów mitotycznych limfocytów, niż traktowany formaliną lub ogrzewany w temperaturze 26°C przez 16 godzin. Zwracają oni też uwagę, że wirus PI₃ poddany działaniu UV nie traci aktywności hemaglutyniny i neuraminidazy.

Wielu autorów podaje (m.in. 7, 33, 34, 38, 42, 46), że aktywność biologiczna wirusa parainfluenzy bydła związana jest głównie z hemaglutyniną i neuraminidazą (HN). Glikoproteiny błony śluzowej górnych dróg oddechowych służą jak receptory dla wirusa PI₃. Wirusowa neuraminidaza oddziela kwas N-acetylneuraminowy (NANA) od glikoproteiny żelu, wirus zostaje uwolniony i przyczepia się do kolejnych miejsc receptorowych związanych z NANA. Proces ten pozwala wirusowi PI₃ penetrować warstwę śluzową, uszkadzając następnie komórki epitelialne pęcherzyków płucnych.

Shioda i wsp. (30) wykazali, że aktywność hemaglutyniny i neuraminidazy wirusa PI₃ jest ściśle związana z lokalizacją aminokwasu leucyny w pozycji 193 białka HN. Zastąpienie w tym miejscu leucyny fenyloalaniną powodowało drastyczną zmianę obu tych aktywności. Nie bez znaczenia wydaje się

być glikoproteina F i M wirusa PI₃. Białko F odpowiedzialne za hemolizę i fuzję komórkową bierze bezpośredni udział w penetracji wirusa w organizmie. Autorzy wskazują na istotną rolę proteiny M w budowie strukturalnej wirusa PI₃, w procesie jego dojrzewania oraz w regulacji transkrypcji. Zwraca się też uwagę na rolę aktywności komórkowej jako komponenty strukturalnej wirusa PI₃ (3).

Mechanizm dynamiki synergistycznego działania wirusa PI₃ na replikację wirusa enzoptycznej białaczki bydła nie jest dokładnie znany. Należy przypuszczać, że pewne znaczenie może mieć trans-aktywacja procesu translacji i transkrypcji wirusa BLV glikoproteiną F lub M wirusa PI₃. Nie bez znaczenia może też być rola genu tat lub genu X-LOR wirusa BLV, kodujących białko p34 i p38 (9, 10, 44, 47).

Interesujące badania nad aktywnością replikacji wirusa HIV przez wirus *Herpes Simplex Virus* typ 1 przedstawili Ostrove i wsp. (32). Wykazali oni ponad 100-krotny wzrost aktywności CAT (acetyl-transferazy chloramfenikolu) związanej z wirusem HIV, po kotransfekcji nim komórek *Vero* genem ICPO i ICP4 wirusa HSV-1, podczas gdy kotransfekcja genem ICPO – dała wynik negatywny. Badania te wykazały, że geny ICPO i ICP4 wirusa HSV-1 mogą aktywować nie tylko CAT-LTR wirusa HIV, lecz również powodują wzrost aktywności enzymu odwrotnej transkryptazy (rewertazy).

Jaki jest wpływ białek wirusa PI₃ na transkrypcję mRNA i translację białek wirusa BLV oraz jaka jest rola strukturalnych białek obu wirusów w patogenezie zarówno parainfluenzy, jak i enzoptycznej białaczki bydła, wyjaśnią najbliższe badania.

Piśmiennictwo

1. Abramson J.S., Giebink G.S., Mills E.L.: J. Infect. Dis. 143, 836, 1981.
2. Bartha A., Köves B.: Acta vet. hung. 25, 349, 1975.
3. Bohn W., Rutter G., Hohenberg H., Mannweiler K., Nobis P.: Virology 149, 92, 1988.
4. Brown T.T., Ananaba G.: Am. J. vet. Res. 49, 1447, 1988.
5. Bryson D.G., Mc Ferran J.B., Ball H.J., Neil S.D.: Vet. Rec. 104, 45, 1979.
6. Bryson D.G., Mc Nulty M.S., Lagan E.F., Cush P.F.: Am. J. vet. Res. 44, 1648, 1983.
7. Bryson D.G.: Parainfluenza-3 Virus in cattle, w Virus Infections of Ruminants, red. Z. Dinter, B. Morein, t. 3, Elsevier Sci. Publ. B.V. Amsterdam 1990, s. 322.
8. Buczek J.: Pol. Arch. vet. 13, 303, 1970.
9. Burny A., Cleuter Y., Kettmann R., Mammerickx M., Marbaix G., Portetelle D., Van Den Broeck A., Thomas R.: Vet. Microbiol. 17, 197, 1988.

10. Derse D.: J. Virol 61, 2461, 1987.
11. Deptuła W., Rułka J., Deptuła D.: Mat. VIII Kongresu PTNW, Warszawa, 1, 106, 1987.
12. Ferrer J.F., Marshak R.R., Abt D.A., Kenyen S.J.: Am. J. vet. Med. Ass. 175, 705, 1979.
13. Ganowicz M.: Mat. VIII Kongresu PTNW, Warszawa 2, 172, 1987.
14. Ganowicz M., Machoy H.: Mat. VII Kongresu PTNW, Lublin 2, 172, 1983.
15. Grundboeck M., Grundboeck-Juško J.: Medycyna Wet. 41, 78, 1985.
16. Grundboeck M., Grundboeck-Juško J.: Medycyna Wet. 38, 19, 1982.
17. Hamrouch A., Buczek J.: Medycyna Wet. 29, 398, 1973.
18. Haremski T., Kaszubkiewicz C., Madej J.: Medycyna Wet. 2, 96, 1973.
19. Johnson K., Morein B.: Res. Vet. Sci. 22, 83, 1977.
20. Kita J., Dobrowolski W., Kowalski B., Kruszezewska B.: Mat. VII Kongresu PTNW, Lublin 1, 20, 1983.
21. Kita J., Kowalski B., Bienkowski J.: Medycyna Wet. 43, 92, 1987.
22. Kolacz J.: Życie wet. 76, 5, 1992.
23. Liggitt H.D., Huston L., Silflow R., Evermann J., Trigo E.: Am. J. vet. Res. 46, 1740, 1985.
24. Łosieczka K., Klimentowski S.: Medycyna Wet. 44, 270, 1988.
25. Łosieczka K., Klimentowski S.: Medycyna Wet. 44, 328, 1988.
26. Łosieczka K., Klimentowski S.: Medycyna Wet. 44, 480, 1988.
27. Łosieczka K., Klimentowski S.: Medycyna Wet. 44, 590, 1988.
28. Łosieczka K., Klimentowski S.: Medycyna Wet. 48, 205, 1992.
29. Marshak R.R., Coriell L.L., Lawrance W.C., Croshaw J.E., Schrywer H.F., Altra K.P., Nichols W.W.: Cancer Res. 22, 202, 1962.
30. Merelalova Z.I., Jakovleva L.S., Mazurenko N.P., Orekhova N.M.: Vop. Virus. 33, 424, 1988.
31. Mc Nair Scott T.F.: Adv. Vir. Res. 3, 165, 1961.
32. Ostrove J.M., Leonard J., Weck K.E., Rabson A.B., Gendelman H.E.: J. Virol. 61, 3726, 1987.
33. Portner A.: Virology 115, 375, 1981.
34. Portner A., Scrogga R.A., Metzger D.W.: Virology 157, 556, 1987.
35. Probert M., Scott E.J., Thomas L.H.: Infect. Immunol. 15, 576, 1976.
36. Rułka J., Grundboeck M.: Mat. VIII Kongresu PTNW, Warszawa 4, 53, 1987.
37. Rosenquist B.D., Dobson A.W.: Am. J. vet. Res. 34, 363, 1974.
38. Sioda T., Wakao S., Suzu S., Shibuta W.: Virology 162, 388, 1988.
39. Slauson D.O., Ley J.C., Castelmann W.L., Neilson N.R.: J. Leukocyte Biol. 41, 412, 1987.
40. Smith H.A.: Pathol. Vet. 2, 68, 1965.
41. Stec J., Grundboeck-Juško J., Grundboeck M.: Medycyna Wet. 41, 117, 1985.
42. Vainiopää R., Marusyk R., Salmi A.: Adv. Vir. Res. 37, 211, 1990.
43. Wittmann W.: Mh. Vet. Med. 23, 255, 1968.
44. Willems L., Geggone A., Chen G., Burny A., Kettmann R., Chysdael J.: EMBO J. 6, 3385, 1987.
45. Yates W.D.G.: Can. J. comp. Med. 46, 225, 1982.
46. Yewdell J., Gerhard W.: J. Immun. 128, 2670, 1982.
47. Yoshinaka Y., Oroszlan A.: Bioch. Bioph. Res. Commun. 131, 347, 1985.

Adres autora: dr Jan Rułka, ul. Lubelska 17/6, 24-100 Puławy

HESELINK J. W.: Wodomacicze u kóz mlecznych: podatność krów do rozplodu po leczeniu prostaglandynami (Hydrometra in dairy goats: reproductive performance after treatment with prostaglandins). Vet. Rec. 133, 186-187, 1993 (8)

U 49 kóz z wodomaciczem po iniekcji 5 mg dinoprostu (Dinolytic, Upjohn) został wydalonny płyn z jamy macicznej. Spontaniczna ruja wystąpiła u 20 kóz, przy czym u 9 (45%) wodomacicze rozwinęło się ponownie, 3 kozy zostały zapłodnione po pierwszej rui, u 8 ruja się powtórzyła. Ruję indukowano u pozostałych 29 kóz podając po 12 dniach po wydalaniu płynu z jamy macicznej dinoprost domięśniowo w dawce 5 mg. W tej grupie wodomacicze pojawiło się ponownie tylko u jednej kozy, 48% zwierząt zaszło w ciążę po pierwszej rui, a u 48 ruja się powtórzyła. Średnia liczba kóz u leczonych zwierząt wynosiła 2, podczas gdy w grupie kontrolnej 2,3.

CHAPMAN B. L., HENDRICH M. J., WASHABAU R. J.: Ziarniniakowate zapalenie wątroby u psów. Opis dziewięciu przypadków (1987-1990). (Granulomatous hepatitis in dogs. Nine cases (1987-1990)). J. Am. Vet. Med. Ass. 203, 680-684, 1993 (5)

Ziarniniakowate zapalenie wątroby (GH) ma etiologię wieloskładnikową. U psów może ono być następstwem migracji larw pasożytów (*Capillaria hepatica*, *Heterohilaria americana*), nokardiozy, gruźlicy, sporotrichozy, kokcydioidomykozy, rozsianej postaci histoplazmozy, kryptokokozy i aspergilozy. Badania kliniczne i histopatologiczne 9 psów z GH wykazały, że w dwóch przypadkach miało miejsce rozszerzenie naczyń limfatycznych, w jednym stwierdzono *limfosarcoma*, a ponadto histiocytozę i dirofilariozę. U jednego psa występowało dodatkowo ziarniniakowate zapalenie płuc, a drugiego wokółbramne zapalenie wątroby. U wszystkich psów występowała żółtaczką, wątroba była powiększona, w jamie brzusznej gromadził się płyn. Aktywność fosfatazy zasadowej i aminotransferazy alaninowej surowicy była zwiększona.