

6. Burstain J., Grimpel E., Lukehart S., Norgaril M., Radolf J.: J. Clin. Microbiol. 29, 62, 1991.
7. Callahan R., Leib M., Todaro G., Graves D., Ferrer J.: Science 192, 1065, 1976.
8. Cockerell G., Kornak J.: Leukemia Res. 12, 465, 1983.
9. Coulston J., Naif H., Brandon R., Kumar S., Khan S., Daniel R., Lavin M.: J. Gen. Virol. 71, 1737, 1990.
10. Dechamps J., Kettmann R., Burny A.: J. Virology 49, 605, 1981.
11. Gaudi S., Ponti W., Agresti A., Malcovatti M., Bonizzi L., Poli G., Amato A., Ginelli E.: Molecular and Cellular Processes 4, 163, 1990.
12. Goodman J., Jurkovich P., Kramber J., Johnson R.: Infect. Immun. 59, 269, 1991.
13. Grundboeck J., Grundboeck M.: Instrukcja Min. Rol. Nr 54, 1983.
14. Hart C., Spira T., Moore J., Sninsky J., Schochetman G., Lifson A., Galphin J., Ou C.: Lancet 11, 596, 1988.
15. Kato N., Yokosuka O., Omata M., Hosoda K., Ohto M.: J. Clin. Invest. 83, 1764, 1989.
16. Kato N., Ou C., Kato H., Bartley S., Brown V., Dowell V., Ueno K.: J. Clin. Microbiol. 29, 33, 1991.
17. Kettmann R., Portetelle D., Mammerickx M., Cleuter Y., Dekegel D., Galoux M., Ghysdael J., Burny A.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73, 1014, 1976.
18. Kettmann R., Cleuter Y., Mammerickx M., Bernsrdi G., Burny A.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 577, 1980.
19. Kettmann R., Marbaix P., Cleuter Y., Portetelle D., Mammerickx M., Burny A.: Leukemia Res. 4, 509, 1980.
20. Kwok S., Mack D., Mullis K., Fiesch B., Ehrlich G., Blair D., Friedman-Kien A., Sninsky J.: J. Virol. 61, 1690, 1987.
21. Kwok S., Higuchi R.: Nature 339, 237, 1989.
22. Laizul D.: Biofutur 2, 44, 1989.
23. Leib D., Coen D., Bogard C., Hicks K., Yager D., Knipe D., Tyler K.: J. Virol. 63, 759, 1989.
24. Maes R., Beisel C., Spatz S., Thacker B.: Vet. Microbiol. 24, 281, 1989.
25. Miller J., Miller L., Olson C., Gillette K.: Natn. Cancer Inst. 83, 1297, 1989.
26. Murakawa G., Zaria J., Spallone P., Stephens D., Kaplan B., Wallace R., Rossi J.: DNA 7, 237, 1983.
27. Naif H., Brandon R., Daniel R., Lavin M.: Vet. Microbiol. 25, 117, 1990.
28. Ogawa Y., Sagata N., Tsuzuki J., Koyama H., Onuma M., Izawa H.: Microb. Immunol. 31, 1009, 1987.
29. Onuma M., Sagata N., Okada K., Ogawa Y., Ikawa Y., Oshima K.: Microb. Immunol. 33, 813, 1982.
30. Ottmann M., Innocenti P., Thenadey M., Micoud M., Pelloguin F., Scignenrin J.: J. Virol. Methods 31, 273, 1991.
31. Rice N., Stephens R., Gliden R.: Virology, 142, 357, 1985.
32. Sagata N., Yasunaga T., Ogawa Y., Tsuzuki J., Ikawa Y.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 4741, 1984.
33. Salki R., Gelfand D., Stoffel S., Scharf S., Higuchi R., Horn G., Mullis K., Erlich H.: Science 239, 487, 1988.
34. Wyatt C., Wingett D., White J., Buck Ch., Knowles D., Reeves R., Magnuson N.: J. Virology 63, 4498, 1989.

Adres autora: dr Jacek Kuźmak, ul. Kościuszki 12/4, 24-100 Puławy

JOANNA OTACHEL-HAWRANEK

Przydatność odczynu syncytialnego do wczesnej diagnostyki zakażeń wirusem białaczki bydła (BLV) u cieląt

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Januszewicka 48, 50-983 Wrocław

Summary

Usefulness of the Syncytial Test for the Diagnosis of Enzootic Bovine Leukaemia in Calves up to One Month of Age

The studies were carried out on 70 calves coming from two farms in the Wrocław district. The calves from cows with positive serological titers (assessed by AGID) against bovine leukaemia virus (BLV). In the farms under study the last case of nodular leukaemia was observed 7 years before and the results of haematological examinations were within the normal range. Out of 7 calves aged 6 months with the presence of specific antibodies against BLV only in two cases the syncytial test appeared to be positive in previous examinations, i.e. in calves aged 1 month. Besides, the findings of serological examinations performed on calves at the age of six months indicated that the percentage of calves infected with BLV in the prenatal period was slight. Calves from cows with seropositive results can in the majority of cases avoid infection with BLV in the postnatal period by their isolation; the contacts of calves with their mothers ought to be possible only during feeding them with colostrum.

Badania wielu autorów (2, 4, 9) wykazały, że ok. 3 do 25% przypadków białaczki u bydła jest wynikiem prenatalnego zakażenia. Mechanizm, który prowadzi do transmisji wirusa BL matki na płód nie jest jeszcze dokładnie poznany. Zależy on od wielu czynników, na które składają się m.in. skłonności genetyczne, obecność trwałej limfocytozy (persistent lymphocytosis, PL) w matczynej krwi, etap rozwoju systemu immunologicznego płodu, czy też w przypadku urodzonych już cieląt — poziom przeciwciał swoistych w sianie ich matek. Żaden z tych czynników nie jest jednak dokładnie zdefiniowany, a uzyskane wyniki prac wielu autorów są często sprzeczne (cyt. 2).

Biorąc pod uwagę fakt, że większość cieląt pojonych siarą krów zakażonych wirusem BL posiada przeciwciała przeciw BLV, które nabywają biernie z siarą, pierwsze badanie serologiczne świadczące o zakażeniu wirusem BL może być wykonane dopiero u 6-mies. cieląt, po zaniknięciu matczynych przeciwciał. Natomiast metody diagnostyczne wykrywające obecność antygenu wirusowego w limfocytach krwi obwodowej umożliwiają rozpoznanie zakażeń wirusem BL już u nowo narodzonych cieląt i są niezależne od obecności swoistych przeciwciał w surowicy krwi badanych zwierząt. Z danych literatury krajowej i zagranicznej (cyt. 2, 6) wynika, że test syncytialny jako metoda diagnostyczna zakażeń wirusem BL u bydła stosowany był głównie w odniesieniu do zwierząt doświadczalnie zakażonych lub wykazujących trwałą limfocytozę (PL).

Celem badań było określenie skuteczności testu syncytialnego w wykrywaniu wczesnych zakażeń wirusem BL u cieląt przebywających w warunkach hodowli wielostadnej charakteryzującej się m.in. różnym stopniem nasilenia szerzenia się BLV.

Materiał i metody

Badanie wykonano na 70 cielętach w wieku 1 mies. Cielęta pochodziły z gospodarstw BS (40 szt.) i Ł (30 szt.), zlokalizowanych na terenie woj. wrocławskiego. Do badań wybrano cielęta pochodzące od krów, u których w ostatnim badaniu serologicznym w kierunku BLV (odczyn immunodysfuzji w żelu agarowym, ID) uzyskano wynik dodatni. Cielęta przebywały w oddzielnym pomieszczeniu, tylko na czas pojenia siarą doprowadzano je do krów. W gosp. Ł ostatni przypadek formy guzowatej BL obserwowano przez 7 lat, a w gosp. BS jeszcze wcześniej.

U cieląt wykonano badania hematologiczne, serologiczne i wirusologiczne. Badanie hematologiczne wykonano u 1-mies. cieląt, zgodnie z instrukcją Nr 47 Min. Roln. Dep. Wet. Obecność swoistych przeciwciał przeciw wirusowi BL

w surowicy 1- i 6-mies. cieląt wykrywano odczynem ID przy zastosowaniu antygenu firmy Hoechst-Behring. Wirus BL izolowano z limfocytów krwi obwodowej 1-mies. cieląt, wg metody Diglio i Ferrera (1), na komórkach śledziony płodu bydłęcego, w sposób poprzednio opisany (6).

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki badań zestawiono w tab. 1 i 2. Badaniem hematologicznym wykazano, że liczba leukocytów krwi obwodowej u większości zwierząt z obu gospodarstw kształtowała się w granicach normy (od 4,5 do 12 tys. w 1 mm³ krwi) (3). Nieznacznie podwyższoną liczbę leukocytów stwierdzono tylko u 1 cielęcia z gosp. Ł (nr 19) i u 1 z gosp. BS (nr 24). Obniżoną liczbę leukocytów stwierdzono u 6 cieląt z gosp. Ł (nr 1, 2, 6, 10, 17 i 29) i u 4 cieląt z gosp. BS (nr 5, 21, 34 i 35).

Odczynem ID wykryto obecność swoistych przeciwciał skierowanych przeciw BLV w surowicach 17 (56,6%) 1-mies. cieląt i 4 (13,3%) 6-mies. cieląt z gosp. Ł, a w gosp. BS — u 13 (32,5%) 1-mies. cieląt i 3 (7,5%) 6-mies. cieląt.

Obecność syncytiów w komórkach śledziony płodu bydłęcego złożonych z co najmniej 5 jąder obserwowano w preparatach z limfocytów krwi obwodowej tylko u 2 cieląt (6,6%) pochodzących z gosp. Ł. Ogniska syncytialne u cielęcia nr 16 widoczne były na całej powierzchni preparatu i składały się z kilkunastu jąder. Natomiast u cielęcia nr 19 stwierdzono jedno ognisko 7-jądrowe, jedno 5-jądrowe i wiele 3—4-jądrowych.

Jak wynika z danych tab. 1 i 2 tylko w 2 przypadkach odczyn ID wykonany u 6-mies. cieląt (nr 16 i 19)

Tab. 1. Wyniki badań hematologicznych, serologicznych (odczyn ID) i izolacji wirusa BL odczynem syncytialnym u cieląt z gosp. Ł

Nr zw.	Liczba leukocytów krwi u 1-mies. cieląt	Odczyn ID u 1-mies. cieląt *	Izolacja BLV u 1-mies. cieląt	Odczyn ID u 6-mies. cieląt
1	2.200	+	—	—
2	1.400	+	—	—
3	5.400	—	—	—
4	7.400	—	—	—
5	8.200	+	—	—
6	2.600	+	—	—
7	4.200	+	—	—
8	6.400	+	—	—
9	5.400	—	—	—
10	3.600	—	—	—
11	10.000	—	—	—
12	11.400	—	—	—
13	4.600	+	—	—
14	7.700	+	—	—
15	5.000	—	—	—
16	11.000	+	+	+
17	3.200	+	—	—
18	7.200	+	—	—
19	14.800	—	+	+
20	7.000	+	—	—
21	9.600	+	—	—
22	4.000	+	—	—
23	4.200	—	—	—
24	6.000	—	—	+
25	7.000	+	—	+
26	5.200	+	—	—
27	10.800	+	—	—
28	6.200	—	—	—
29	3.000	—	—	—
30	9.400	—	—	—
Wyniki dodatnie w %:		56,6	6,6	13,3

Objaśnienia: * przeciwciała pochodzenia matczynego, + wynik dodatni, — wynik ujemny.

potwierdził ich wczesne zakażenie w okresie życia płodowego. Pomimo ujemnych wyników izolacji wirusa u cielęcia nr 25 (tab. 1) i nr 20 (tab. 2) dodatnie reakcje serologiczne uzyskane w 1 mies. ich życia i potwierdzone w 6 mies. później mogą być również dowodem prenatalnego zakażenia wirusem BL. Biorąc pod uwagę fakt, że były one pojone siarą serododatnich krów, dodatnie reakcje serologiczne wykryte w pierwszym miesiącu ich życia mogą być wynikiem zarówno obecności biernie nabytych przeciwciał, jak też odpowiedzi na wczesne zakażenie wirusem BL, w okresie życia płodowego. Pozostałe trzy 6-miesięczne, serododatnie cielęta, nr 24 (tab. 1) oraz nr 13 i 28 (tab. 2), mogły ulec zakażeniu wirusem BL podczas odchowu.

Łącznie na badanych 70 cieląt pochodzących od matek zakażonych BLV, tylko siedem 6-mies. cieląt (10%) wykazało obecność swoistych przeciwciał będących dowodem ich wczesnego zakażenia wirusem BL. Natomiast spośród ww. 7 cieląt dodatni wynik izolacji wirusa uzyskano w dwóch przypadkach (28,5%).

Warunkiem izolacji wirusa BL na hodowlach komórkowych jest m.in., obecność wystarczającej liczby limfocytów z wbudowanym genomem BLV we krwi obwo-

Tab. 2. Wyniki badań hematologicznych, serologicznych (odczyn ID) i izolacji wirusa BL odczynem syncytialnym u cieląt z gosp. BS

Nr zw.	Liczba leukocytów krwi u 1-mies. cieląt	Odczyn ID u 1-mies. cieląt *	Izolacja BLV u 1-mies. cieląt	Odczyn ID u 6-mies. cieląt
1	8.200	+	—	—
2	7.000	+	—	—
3	7.600	+	—	—
4	5.600	+	—	—
5	3.800	—	—	—
6	9.000	—	—	—
7	4.000	—	—	—
8	8.200	—	—	—
9	8.400	—	—	—
10	4.200	—	—	—
11	4.000	—	—	—
12	5.400	—	—	—
13	5.600	—	—	+
14	4.800	—	—	—
15	7.000	—	—	—
16	6.600	+	—	—
17	10.200	—	—	—
18	8.400	—	—	—
19	10.000	—	—	—
20	5.600	+	—	+
21	1.800	+	—	—
22	10.600	—	—	—
23	7.800	—	—	—
24	13.200	—	—	—
25	5.600	—	—	—
26	5.400	—	—	—
27	4.600	—	—	—
28	6.800	—	—	+
29	5.000	—	—	—
30	4.600	—	—	—
31	6.800	+	—	—
32	5.400	—	—	—
33	4.000	—	—	—
34	3.400	+	—	—
35	1.400	—	—	—
36	8.200	+	—	—
37	9.400	+	—	—
38	5.800	+	—	—
39	6.000	+	—	—
40	7.400	—	—	—
Wyniki dodatnie w %:		32,5	0	7,5

Objaśnienia: * przeciwciała pochodzenia matczynego, + wynik dodatni, — wynik ujemny.

dowej badanego zwierzęcia. W poprzednim badaniu (6), którego celem było wykazanie obecności wirusa BL u krów w okresie okołoporodowym oraz u ich potomstwa, dodatni wynik izolacji wirusa BL uzyskano u 40% krów i 23% cieląt będących potomstwem tych krów. Z epizootycznego punktu widzenia wartość ta jest znaczna. Jednak w oborze tej obserwowano przypadek formy guzowatej BL w trakcie wykonywania badań, a wiele krów pochodzących z omawianej obory było uznanych za białaczkowe wg klucza europejskiego. Zatem wykazywały one trwałą limfocytozę, co — jak wspomniano wcześniej (6) — znacznie ułatwia wykrycie obecności wirusa w limfocytach krwi.

Podobne wyniki badań uzyskali Piper i wsp. (cyt. 2), którzy odczynem syncytialnym wykryli obecność wirusa BL u 15 (18%) spośród 84 cieląt pochodzących od białaczkowych krów. Natomiast Straub (8) testem syncytialnym uzyskał dodatni wynik izolacji wirusa BL u wszystkich cieląt, które były potomstwem krów serododatnich, z limfocytozą i z dodatnim wynikiem izolacji wirusa BL. Wyniki prac wielu autorów (2, 5, 7, 8, 10) wskazują, że ryzyko zakażenia wirusem BL potomstwa *in utero* jest znacznie większe u krów, od których można wyizolować wirus BL na hodowli komórkowej, niż w przypadku serologicznie dodatnich krów z ujemnym wynikiem izolacji wirusa. Zatem nie wszystkie krowy zakażone wirusem BL są równie zakaźne dla swojego potomstwa.

Wykrycie zakażeń wirusem BL u nowo narodzonych cieląt pojętych siarą serododatnich krów napotyka na duże trudności w diagnostyce laboratoryjnej. Ze względu na obecność swoistych przeciwciał pochodzenia matczynego u tych cieląt serologiczne metody diagnostyczne nie mogą być wiarygodnym wskaźnikiem zakażenia wirusem BL. Ponadto pobranie krwi od cieląt w celu wykrycia obecności swoistych przeciwciał, jeszcze przed pierwszym pojeniem ich siarą, jest praktycznie niemożliwe w warunkach hodowli wielkostatnej. Stąd też stosowanie metod izolacji wirusa BL u nowo narodzonych cieląt jest w pełni uzasadnione. Jednak, w świetle wyników badań własnych (cielę nr 25 z gosp. Ł i nr 20 z gosp. BS) oraz wielu autorów (cyt. 2), test syncytialny nie wykrywa wszystkich zwierząt zakażonych wirusem BL i z tych względów nie może być stosowany jako jedyna metoda do wczesnej diagnostyki zakażeń wiru-

sem BL u nowo narodzonych cieląt. Umożliwia on jednak wczesne wykrycie siewców wirusa BL w stadzie. Wg Strauba (8) nowo narodzone cielęta, od których można wyizolować wirus BL, są źródłem tego zarazka dla innych cieląt w stadzie, zwłaszcza dla tych, które mają niski poziom przeciwciał matczynych lub wykazują ich brak i mogą one być siewcami wirusa BL w każdym czasie po urodzeniu. Stąd też wczesna identyfikacja i usunięcie cieląt dodatnio reagujących w próbie izolacji wirusa BL ograniczyłoby w znacznym stopniu częstość transmisji BLV w stadzie drogą kontaktu.

Jak wspomniano wcześniej (6), przy interpretacji wyników testu syncytialnego należy również wziąć pod uwagę inne, poza BLV, wirusy typu C występujące u bydła.

W omawianej pracy uwagę zwraca również brak dodatnich wyników serologicznych u 13. 1-mies. cieląt (43,4%) w gosp. Ł i 27. 1-mies. cieląt (67,5%) w gosp. BS pojętych siarą serododatnich krów. Łosieczka (4) otrzymał podobne wyniki tłumacząc je możliwością wystąpienia zaburzeń hormonalnych u krów, które hamują przepływ przeciwciał z surowicy do gruczołu mlekowego lub też dysfunkcją błony śluzowej jelit u cieląt. Znaczny procent cieląt reagujących ujemnie w odczynie ID wskazywać może również na małą czułość tego odczynu. Odczyn immunodyszfuzji spełnia swoje zadanie jako test stadny, natomiast w przypadku pojedynczych zwierząt jego wartość diagnostyczna jest niewystarczająca dla zobrazowania dynamiki narastania przeciwciał przeciw BLV.

Piśmiennictwo

1. Diglio C. A., Ferrer J. F.: Cancer Res. 36, 1056, 1976.
2. Ferrer J. F.: Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 24, 1, 1980.
3. Janiak T.: Diagnostyka laboratoryjna w chorobach wewnętrznych zwierząt domowych. Skrypty AR Wrocław Nr 110, Wrocław 1973, s. 131.
4. Łosieczka K.: Medycyna Wet. 42, 595, 1986.
5. Miller L. D., Miller J. M., Van der Maaten M. J., Schmerr M. J. F.: Am. J. Vet. Res. 46, 338, 1985.
6. Otachel-Hawranek J., Boruta J.: Medycyna Wet. 46, 392, 1990.
7. Straub O. C.: Fourth International Symposium on Bovine Leukosis, The Hague, Boston, London 1982, s. 5.
8. Straub O. C.: Fifth International Symposium on Bovine Leukosis, Luxembourg 1984, s. 258.
9. Thurmond M. C., Surridge M. J.: J. Am. vet. med. Ass. 181, 1531, 1982.
10. Van der Maaten M. J., Miller J. M., Schmerr M. J. F.: Fourth International Symposium on Bovine Leukosis, The Hague, Boston, London 1982, s. 25.

Adres autora: dr Joanna Otachel-Hawranek, Bulwar Ikara 20 m. 7, 54-130 Wrocław

YORK I. A., THORSEN J.: Ocena szczepionki z podjednostek dla adenowirusa bydła typ 3. (Evaluation of a subunit vaccine for bovine adenovirus type 3). Am. J. Vet. Res. 53, 180—183, 1992 (2)

Adenowirusy bydła powodują choroby układu oddechowego, rzadko przewodu pokarmowego, zwłaszcza u bydła w wieku ponad 1 roku życia. W USA zachorowania wywołuje głównie serotyp 3 adenowirusa (BAV-3). Szczepionka z podjednostek oparta o szczep WBR-1 wirusa BAV-3 oczyszczona na drodze chromatografii jonowymiennej anionowej cechuje się bardzo wysoką immunogennością. Szczepionka wchodząca w skład kompleksu immunostymulacyjnego (ISCOM) została podana królikom donosowo, dwukrotnie w odstępie 14-dniowym (dawka zawiera 75 µg białka) oraz u cieląt w wieku 20—50 dni (w dawce 200 µg). Zarówno u królików, jak i u cieląt znamienie wzrosło po szczepieniu miano swoistych przeciwciał. Maksymalną wartość miano przeciwciał osiągnęło po tygodniu po szczepieniu drugą dawką szczepionki. Niskie miano przeciwciał występowało w wydzielinie jamy nosowej cieląt szczepionych. Szczepionka z podjednostek może być stosowana jako jeden ze składników wielowartościowej szczepionki przeciwko chorobom wirusowym układu oddechowego bydła.

CHRISTIANSEN W. T., KIM H. S., YOON I. J., JOO H. S.: Transplacentalne zakażenie płodów świni po doświadczalnym zakażeniu wirusem zapalenia mózgu i mięśnia serca. (Transplacental infection of porcine fetus following experimental challenge inoculation with encephalomyocarditis virus). Am. J. Vet. Res. 53, 44—47, 1992 (3)

Celem wykazania możliwości transplacentalnego zakażenia płodów 10 macior wieloródek pomiędzy 46 a 50 dniem ciąży zakażono wirusem zapalenia mózgu-zapalenia mięśnia serca (EMCV). Szczep użyty do zakażenia pochodził od padłego prosięcia i był przepasażowany czterokrotnie przez hodowlę BHK-21 lub pięciokrotnie przez prosięta 7—10-dniowe (szczep MN-25/P). Z 4 macior zakażonych szczepem MN-25 dwie poddano ubojowi 23, a 2—44 dnia po zakażeniu, z 6 macior zakażonych szczepem MN-25/P dwie poddano ubojowi po 14, a pozostałe po 28 dniach po zakażeniu. U zakażonych macior nie występowały żadne objawy kliniczne pomimo wzrostu miana przeciwciał dla wirusa EMCV. W grupie macior zakażonych szczepem MN-25 jedno prosię było zmumifikowane. W grupie macior zakażonych szczepem MN-25/P 20 z 48 płodów macior poddanych ubojowi 28 dnia po zakażeniu uległo mumifikacji. Wirus EMCV wyosobniono z 21 na 48 płodów.