

## Wpływ zakażenia wirusem wirusowej biegunki bydła na płodność i wyniki rozrodu u bydła.

Dr n. wet. Monika Ptaszyńska  
Intervet International BV  
Boxmeer, Holandia

### Wstęp

Zakażenie wirusem wirusowej biegunki bydła (bovine viral diarrhoea – BVD) w okresie pre i postnatalnym jest związane z różnorodnymi objawami chorobowymi obejmującymi immunosupresję, poronienia, narodziny cieląt z wadami wrodzonymi i chorobę błon śluzowych.

Zakażenie ostre u osobników dorosłych przebiega w większości przypadków w formie podklinicznej i może być związane z biegunką o łagodnym przebiegu. W niektórych przypadkach, ostra forma zakażenia przebiega z objawami ze strony układu oddechowego oraz rzadko z trombocytopenią prowadzącą do licznych wybroczyn w organach wewnętrznych.

Ostre zakażenia wirusem BVD u ciężarnych krów może prowadzić do wczesnej zamieralności zarodków, deformacji płodu lub poronienia. Płody mające kontakt z wirusem BVD we wczesnym okresie ciąży mogą podlegać wrodzonemu zakażeniu, urodzić się jako zdrowe i niezakażone cielęta lub obumrzeć i ulec poronieniu. Cielęta trwale zakażone wirusem BVD (persistently infected – PI) mogą charakteryzować się opóźnionym wzrostem lub też praktycznie nie wykazywać żadnych objawów klinicznych zakażenia (szczegółowy przegląd – Polak i Żmudziński 2002). Owi bezobjawowi nosiciele wirusa BVD mają ogromne znaczenie epidemiologiczne, jako że stanowią przez całe życie nieustanne źródło zakażenia, zapewniając cyrkulację wirusa nawet, jeśli poziom odporności w stadzie zapobiega wybuchowi ostrej formy zakażenia. U zwierząt PI może także dojść do rozwinięcia się śmiertelnej formy zakażenia – choroby błon śluzowych (mucosal disease – MD), będącej wynikiem nadkażenia cytopatyczną formą wirusa BVD, która może powstać jako mutacja szczepu wirusa typu niecytopatycznego odpowiedzialnego za zakażenie trwałe (Polak i Żmudziński 2002).

### Wpływ wirusa BVD na płodność bydła

Zakażenie wirusem BVD u bydła wywiera głęboki negatywny wpływ na zdolność rozrodczą zarówno osobników męskich, obniżając jakość nasienia, jak i

osobników żeńskich powodując zaburzenia funkcjonalne i morfologiczne prowadzące obniżonego odsetka zapłodnień, obniżenia jakości zarodków i poronień.

#### Osobniki męskie

Większość tkanek na terenie męskiego układu rozrodczego u bydła jest wrażliwa na zakażenie wirusem BVD, choć jak dotychczas nie potwierdzono obecności cząsteczek wirusa w samych plemnikach. Wirus BVD może być izolowany z gruczołów płciowych dodatkowych, tkanek jąder oraz plazmy nasienia zakażonych byków. W wyniku ostrego zakażenia wirusem BVD u dorosłych byków dochodzi do krótkotrwałej wiremii, po której następuje serokonwersja, zaś obecność antygenów wirusowych można stwierdzić w ich nasieniu do około 14 dni po zakażeniu (Paton i wsp., 1989). Byki, które podległy zakażeniu wrodzonemu (PI) mogą natomiast wydzielać wirus wraz z nasieniem stale i praktycznie przez całe życie (Meyling i wsp., 1988). Trzeci, choć niezwykle rzadki przypadek dotyczy może sytuacji opisanej przez Voges i wsp. (1998) i dotyczy byka wydzielającego wirus BVD wraz z nasieniem przez dłuższy okres czasu, bez oznak wiremii, ale przy obserwowanym stałym wysokim mianie specyficznych przeciwciał. Badanie pośmiertne wykazało istnienie u tego osobnika ograniczonego zakażenia na terenie jąder, do którego prawdopodobnie doszło w okresie osiągnięcia przez zwierzę dojrzałości płciowej. Ukształtowana w tym okresie bariera krew-jądro skutecznie chroniła wirus przed działaniem specyficznych przeciwciał, zaś okresowe przedostawanie się wirusa przez barierę prowadziło do immunostymulacji i utrzymywania się wysokich mian przeciwciał.

Ostre zakażenie wirusem BVD z reguły prowadzi do okresowego pogorszenia ilościowych i jakościowych wskaźników nasienia. U byków PI obserwować można zarówno niską jakość nasienia jak i praktycznie brak wyraźnych oznak pogorszenia jego parametrów (Wrathal i wsp. 2006).

#### Osobniki żeńskie

Rosnąca liczba publikacji wskazuje obecnie na fakt, iż negatywny wpływ zakażenia wirusem BVD na wydolność rozrodczą krów nie ogranicza się jedynie do powodowania śmierci płodu i poronienia. Liczne doniesienia wskazują na redukcję odsetka zapłodnień w stadach bydła zakażonego wirusem BVD, który to objaw jest także jednym z głównych problemów odczuwanych w stadach, w których stwierdzono obecność BVD (Houe i wsp., 1993; McGovan i wsp., 1993). Wczesne badania Ssentongo i wsp. (1980) opisują izolację wirusa BVD z tkanek

jajników u około 3% jałówek ras mięsnych poddanych badaniu w kierunku bezpłodności. Viracul i wsp. (1988) wykazali, iż zakażenie krów wirusem BVD w okresie okołoinseminacyjnym znacznie obniżało u nich odsetek zapłodnień. Wiremia wywołana doświadczalnie podczas fazy pęcherzykowej cyklu rujowego u krów dawczyń zarodków prowadziła do 50% obniżenia odsetka zacieleń oraz pogorszenia jakości i liczby zarodków otrzymanych w wyniku superowulacji (McGowan i wsp., 1993; Kafi i wsp., 1997).

**Wpływ zakażenia wirusem BVD na rozwój pęcherzyków jajnikowych i produkcję estrogenów**

Grooms i wsp. (1998) wykazali, że u seronegatywnych krów zakażonych niecytopatogennym izolatem wirusa BVD maksymalna średnica i tempo wzrostu dominujących pęcherzyków przedowulacyjnych i owulacyjnych ulegały znacznemu obniżeniu podczas dwóch kolejnych cykli rujowych po zakażeniu. Obserwacje te zostały później potwierdzone w pracach Fray i wsp. (1999, 2000, 2002), którzy wykazali, iż u krów zakażonych wirusem BVD dochodzi do zaburzenia wzrostu pęcherzyków jajnikowych, że znacznie niższą maksymalną średnicą osiąganą przez pęcherzyki przedowulacyjne oraz niższą maksymalną średnicą pęcherzyków owulacyjnych, w porównaniu a niezakażonymi krowami w grupie kontrolnej. Kafi i wsp. (1997) opisali znaczące obniżenie odsetka owulacji u jałówek poddanych superowulacji, zakażonych doświadczalnie na 9 dni przed zabiegiem sztucznego unasieniania niecytopatogennym szczepem wirusa BVD.

Prace Fray i wsp. (1999, 2000, 2002) wyraźnie wykazały, iż wiremia zewnątrzkomórkowa w okresie okołoinseminacyjnym ma wyraźnie negatywny wpływ na rozrodcze funkcje dokrewne zarówno u krów jak i jałówek. Różnice w stopniu rozwoju pęcherzyków jajnikowych obserwowane u zakażonych jałówek związane były z zaburzeniami w wydzielaniu estradiolu prowadzącymi do generalnie niższej koncentracji tego hormonu w krążeniu ogólnym, a zwłaszcza do niższego i opóźnionego przedowulacyjnego wylewu estradiolu (Fray i wsp., 1999).

To z kolei może wyjaśniać obserwowane przez Kafi i wsp. (1997) i McGowan (2003) opóźnienie momentu wystąpienia objawów rujowych oraz generalnie gorszą demonstrację rui u jałówek zakażonych wirusem BVD. W tej samej serii doświadczeń

McGowan i wsp. (2003) obserwowali nieprawidłowe wydzielanie LH w grupie zakażonych krów, spośród których tylko nieliczne wykazywały przedowulacyjny wylew LH o normalnym nasileniu, podczas gdy u pozostałych

stwierdzono jego opóźnienie lub znacznie obniżoną amplitudę. Badania profilu hormonalnego zakazanych jałówek wykazały, że u większości z nich (83%) nie dochodziło do normalnego przedowulacyjnego wylewu estradiolu i LH (McGowan i wsp., 2003). Można to interpretować jako bezpośredni wynik upośledzonego wzrostu pęcherzyków jajnikowych, prowadzącego do obniżonej produkcji estradiolu – niewystarczającej do stymulacji adekwatnego przedowulacyjnego wylewu LH. Opóźniony i obniżony przedowulacyjny wylew LH może prowadzić do opóźnionej owulacji, co z kolei ujemnie wpływa na jakość oocytów i dalszy potencjał rozwojowy zarodków.

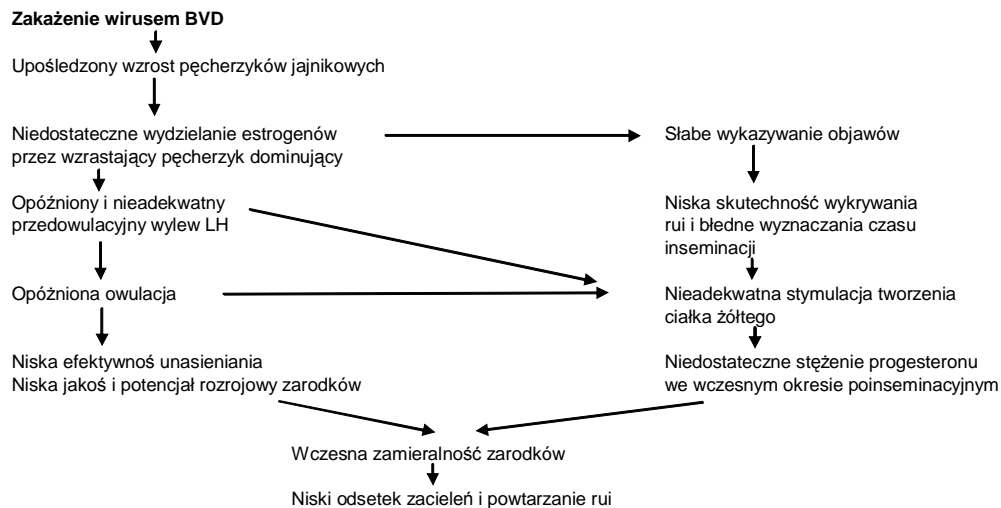
#### Wpływ zakażenia wirusem BVD na funkcję ciała żółtego

W doświadczeniach opisanych przez Fray i wsp. (1999, 2000, 2002) oraz McGowan i wsp. (2003) stwierdzono znaczne różnice w wczesnej produkcji progesteronu pomiędzy zwierzętami zakazanymi BVDV i krowami seronegatywnymi, co może stanowić dalsze wyjaśnienie mechanizmu stojącego za obniżonymi wskaźnikami rozrodu w stadach zakazanym tym wirusem. We wszystkich dotychczas opisanych badaniach krowy i jałówki, u których wystąpiła zewnątrzkomórkowa wiremia w okresie okołoinseminacyjnym wykazywały opóźnienie wczesnego po-owulacyjnego wzrostu stężenia progesteronu jak również generalnie niższe stężenia progesteronu pomiędzy 3 i 11 dniem po owulacji. Jak już wspomniano, wyniki badań przeprowadzonych w ciągu ostatnich lat wykazały, iż niskie stężenie progesteronu w krążeniu ogólnym podczas wczesnej fazy lutealnej oraz opóźniony wzrost stężenia tego hormonu we wczesnym okresie po-owulacyjnym są związane z opóźnionym rozwojem zarodków i niskim odsetkiem zacieleń (Kerbler w sp., 1997; Mann i wsp., 1999; Mann i Lamming 2001). Jest możliwym, iż obniżone stężenie progesteronu obserwowane w krążeniu krów zakazanym wirusem BVD przyczynia się do obniżenia płodności poprzez powodowanie opóźnienia w rozwoju zarodków. To z kolei może negatywnie wpływać na zdolność zarodków do syntezy interferonu tau i efektywnego zapobiegania przedwczesnej luteolizie. Na słuszność tej tezy wskazywać mogą wyniki przeprowadzonej na znaczną skalę analizy statystycznej wpływu zakażenia BVDV na płodność stad krów mlecznych w Bretanii, w której krowy podlegające trwałemu zakażeniu BVDV obarczone były znacznie wyższym ryzykiem tzw. późnych powtórek (powrót do wykazywania objawów rujowych po ponad 21 dniach od unasieniania) niż krowy ze stad uznanych za niezakażone (Robert i wsp., 2003).

Można zatem stwierdzić, że zakażenie wirusem BVD i wiremia podczas fazy pęcherzykowej prowadzą do obniżenia płodności zakazanym krów poprzez

upośledzenie wzrostu pęcherzyków jajnikowych, ich owulacji oraz uniemożliwiają formowanie kompetentnego ciała żółtego, tym samym prowadząc do upośledzonego rozwoju zarodkowego i procesów rozpoznawania ciąży.

**Mechanizm zmian czynnościowych związanych z obniżeniem wskaźników wydajności rozrodczej krów zakażonych wirusem BVD**



**Zmiany morfologiczne leżące u podstaw zaburzeń funkcjonalnych związanych z zakażeniem wirusem BVD**

Przez wiele lat mechanizm leżący u podstaw zaburzeń funkcji jajników u bydła zakażonego wirusem BVD pozostawały niewyjaśnione. Niemal wszystkie tkanki w obrębie żeńskiego układu rozrodczego bydła mogą podlegać zakażeniu wirusem zakaźnej biegunki bydła z podobną lokalizacją cząsteczek wirusa u zwierząt w stadium ostrym jak i przewlekłym zakażenia. Obecność wirusa BVD można stwierdzić w komórkach w obrębie jajowodu, endometrium, miometrium oraz błonach płodowych (Fredriksen i wsp., 1991; Booth i wsp. 1995). W obrębie jajnika, wirus BVD identyfikowano w tkance mięszonej, ciałku żółtym, komórkach warstwy ziarnistej, komórkach ściennych, jak również w płynie pęcherzykowym (Booth i wsp., 1995; Grooms i wsp., 1996; Fray i wsp., 1998). Choć obecność antygenów wirusowych stwierdzono w oocytach otrzymanych od osobników PI (Brownlie i wsp., 1997; Fray i wsp. 1998), jak dotąd nie wykazano ich obecności w oocytach samic przechodzących ostrą fazę zakażenia.

Ssentongo i wsp. (1980) opisali stan zapalny jajników o różnym nasileniu utrzymujący się do 60 dni po ostrym zakażeniu wirusem BVD. Obserwacje te zostały potwierdzone przez McGowan i wsp (2003), którzy zademonstrowali objawy zaawansowanego, nieropnego zapalenia jajników w preparatach

histopatologicznych otrzymanych z jajników zakażonych krów, poddanych ubojowi w 2 dni po unasieniu. W doświadczeniu tym zakażenia wirusem BVD dokonano w sposób, który zapewniał wysoką skuteczność, jak również indukował wiramię o natężeniu i trwałości porównywalnym z obserwowanymi po zakażeniu naturalnym. W analizowanych preparatach tkanek jajnikowych warstwa ziarnista pęcherzyków jajnikowych w strefach objętych silnym procesem zapalnym podlegała częściowej lub całkowitej martwicy z obecnością detritusu komórkowego oraz nagromadzeniem leukocytów we wnętrzu pęcherzyków jajnikowych. Ciałka krwotoczne powstałe w wyniku owulacji u tych krów były znacznie mniejszych rozmiarów niż u niezakażonych zwierząt w grupie kontrolnej. W obrazie histologicznym tych struktur można było obserwować wyraźne oznaki zwyrodnienia. Wspomniane powyżej zmiany zapalne zademonstrowane zarówno w pęcherzykach jajnikowych jak i tworzących się ciałkach żółtych krów zakażonych wirusem BVD niewątpliwie przyczyniły się do powstania zaburzeń czynnościowych prowadzących do upośledzonego funkcjonowania pęcherzyków jajnikowych i ciałek żółtych i w konsekwencji do obniżenia wyników rozrodu.

**Powrót do pełnej efektywności funkcji rozrodczych po ostrym zakażeniu wirusem BVD**

W bardzo nielicznych jak dotąd badaniach dokonano oceny czasu, jakiego wymaga powrót do normalnego poziomu płodności po ostrym zakażeniu wirusem BVD. Ssentongo i wsp. (1980) obserwowali utrzymywanie się zmian zapalnych w jajnikach krów zakażonych wirusem BVD przez 61 dni po zakażeniu doświadczalnym. Wyniki badań Houe i wsp. (1993) wskazują na to, iż odzyskanie fizjologicznego poziomu płodności po zakażeniu wirusem BVD jest stosunkowo długotrwałym procesem.

**Mechanizm działania wirusa BVD na zespół płodowo-łożyskowy**

Jedną z najszerzej znanych i badanych konsekwencji zakażenia wirusem BVD u bydła jest śmierć płodu i poronienie. W przypadku zakażenia ciężarnych samic, wirus dokonuje inwazji tkanek łożyska podczas fazy wirerii, namnaża się i przez łożyskowo dostaje się na teren tkanek płodu z efektywnością sięgającą niemal 100%, jak wskazują badania z zakażeniem doświadczalnym (Duffell i wsp., 1985). Badania stosujące owczy model zakażenia BVDV u zwierząt ciężarnych wykazały, że wirus pojawia się w błonach owodni i omocznii, po czym rozprzestrzenia się na terenie kosmówko-omocznii, a stąd dociera do płynu owodniowego i samego płodu.

Skutki zakażenia płodu wirusem BVD są złożone i zależą od licznych czynników, wśród których wiek płodu, w którym dochodzi do zakażenia ma decydującą rolę. Generalnie, zakażenie przezłożyskowe jest szczególnie niebezpieczne dla rozwoju płodu podczas pierwszych 180 dni ciąży i może prowadzić do śmierci płodu, po której może dojść do jego mumifikacji i/lub poronienia, jak również do wrodzonych deformacji płodu oraz urodzenia cielęcia z zakażeniem trwałym (PI).

Patogeneza poronień oraz unikalna sytuacja immunologiczna, do której dochodzi u zwierząt permanentnie zakażonych wirusem BVD, jak również ich rola w rozprzestrzenianiu zakażenia w stadzie zostały szeroko opisane zarówno w literaturze angielsko jak i polskojęzycznej (Duffell i wsp., 1985, Baker 1995; Polak i Żmudziński 2002).

Wyniki przedstawionych tu badań wskazują, że na obszarach gdzie zakażenie wirusem zakaźnej biegunki bydła jest realnym zagrożeniem, powinno się przedsięwziąć wszelkie dostępne środki w celu ograniczenia strat wynikających z obniżonej wydajności rozrodczej krów i jałówek związanej z zakażeniem tym wirusem. Działania te obejmują zapobieganie wystąpieniu zewnątrzkomórkowej wiremii w okresie okołoinseminacyjnym oraz zakażeniu płodu przez cały okres ciąży.

Z punktu widzenia prowadzenia rozrodu w stadach bydła profilaktyka taka powinna obejmować:

- utrzymywanie właściwego statusu immunologicznego krów i jałówek w stadzie poprzez utrzymywanie statusu stada zamkniętego lub szczepienia ochronne przy pomocy szczepionek zapobiegających zewnątrzkomórkowej wiremii i zakażeniu transplacentarnemu
- bezwzględne zapobieganie wprowadzeniu do stada osobników PI i znajdujących się w fazie ostrej zakażenia
- stosowanie nasienia i zarodków pochodzących ze źródeł monitorujących nienagannie status byków i dawczyń zarodków w zakresie BVD i stosujących zalecenia IETS w odniesieniu do pozyskiwania i hodowli zarodków.

## Piśmiennictwo:

- Baker JC. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Vet Clin North Am: Food Animal Practice* 1995;11:425-445
- Booth PJ., Stevens DA., Collins ME., Brownlie J. Detection of bovine viral diarrhoea virus antigen and RNA in oviduct and granulosa cells of persistently infected cattle. *J Reprod Fertil* 1995;105:17-24
- Brownlie J., Booth PJ., Stevens DA., Collins ME. Expression of non-cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus (BVDV) in oocytes and follicles of persistently infected cattle. *Vet Rec* 1977;141:335-337
- Duffell SJ., Harkness JW. Bovine virus Diarrhoea-mucosal disease infection in cattle. *Vet Rec* 1985;117:240-245
- Fray MD., Prentice H., Clarke MC., Charleston B. Immunohistochemical evidence for the localisation of bovine viral diarrhoea virus, a single stranded RNA virus, in ovarian oocytes in the cow. *Vet Pathol* 1998;35:253-259
- Fray MD., Mann GE., Clarke MC., Charleston. Bovine viral diarrhoea virus: its effects on oestradiol, progesterone and prostaglandin secretion in the cow. *Theriogenology* 1999;51:1533-1546
- Fray MD., Mann GE., Clarke MC., Charleston B. Bovine viral diarrhoea virus: its effects on ovarian function in the cow. *Vet Microbiol* 2000;77:185-194
- Fray MD., Mann GE., Bleach ECL., Knight PG., Clarke MC., Charleston B. Modulation of sex hormone secretion in cows by acute infection with bovine viral diarrhoea virus. *Reproduction* 2002;123:281-289
- Fredriksen B., Press CML., Loken T., Odegaard SA. Distribution of viral antigen in uterus placenta and foetus of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Microbiol* 1991;64:109-122
- Grooms DL., Ward LA., Brook KV. Morphologic changes and immunohistochemical detection of viral antigen in ovaries from cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Am J Vet Res* 1996;57:830-833
- Grooms DL., Brock KV., Pate JL., day ML. Changes in ovarian follicles following acute infection with bovine viral diarrhoea virus. *Theriogenology* 1998;49:595-605
- Houe H., Myrup Pedersen K., Meyling A. The effect of bovine viral diarrhoea virus infection on conception rate. *Prev Vet Med* 1993;15:117-123
- Kafi M., McGowan MR., Kirkland PD., Jillela D. The effect of bovine pestivirus infection on the superovulatory response of Fresian heifers. *Theriogenology* 1997;48:985-996
- Kerbler TL., Buhr MM., Jordan LT., Leslie KE., Walton JS. Relationship between maternal progesterone concentration and interferon tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 1997;47:703-714
- Mann GE., Lamming GE., Robinson RS., Wathes DC. The regulation of interferon tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J Reprod Fertil* 1999;Suppl 54: 317-328
- Mann GE., lamming GE. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanisms in cows. *Reproduction* 2001;121:175-180
- McGowan MR., Kirkland PD., Richards SD., Littlejohns IR. Increased reproductive losses in cattle infected with bovine pestivirus around the time of insemination. *Vet Rec* 1993;133:39-43
- McGowan MR., Kafi M., Kirkland PD., Kelly H., Occhio MD., Jillella D. Studies of the pathogenesis of bovine pestivirus-induced ovarian dysfunction in superovulated cattle. *Theriogenology* 2003;59:1051-1066

Meyling A, Jensen AM. Transmission of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) by artificial insemination (AI) with semen from a persistently-infected bull. *Vet Microbiol* 1988;17:97-105.

Paton DJ., Goodey R., Brockman S., Wood I. Evaluation of the quality and virological status of semen from bulls acutely infected with BVDV. *Vet Rec* 1989;124:63-4.

Polak MP., Żmudziński JF. Obraz kliniczny zakażenia wirusem BVD-MD u cieląt. *Mag Wet* 2002;74:63-66

Robert A., Beaudeau F., Seegers H., Joly A., Philipot JM. Large scale assessment of the effect associated with bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy cows in 6149 dairy herds in Brittany (Western France). *Theriogenology* 2003;61:17-127

Ssentongo YK., Johnson RH., Smith JR. Association of bovine viral diarrhoea-mucosal disease virus with ovaritis in cattle. *Aust Vet J* 1980;56:272-273

Virakul P., Fahning ML., Joo HS., Zemjanis R. Fertility of cows challenged with a cytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus during an outbreak of spontaneous infection with a non-cytopathic strain. *Theriogenology* 1988;29:441-450

Voges H., Horner GW., Rowe S., Wellenberg GJ. Persistent bovine pestivirus infection localized in the testes of an immuno-competent, non-viraemic bull. *Vet Microbiol* 1998;61:165-75.

Wrathall AE., Simmons HA and A. Van Soom. Evaluation of risks of viral transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilisation with virus-infected semen. *Theriogenology* 2006;6:247-274