

## GALVIJŲ VIRUSINĖS DIARĖJOS VIRUSŲ IR ROTAVIRUSŲ INFEKCIJOS EPIZOOTOLOGINIŲ YPATUMŲ PALYGINAMASIS TYRIMAS

Algirdas Šalomska<sup>1,2</sup>, Violeta Mockeliūnienė<sup>2</sup>, Raimundas Mockeliūnas<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Užkrečiamųjų ligų katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas; tel. (8-37) 36 18 05; el. paštas: [salomska@lva.lt](mailto:salomska@lva.lt)

<sup>2</sup> Virusologijos skyrius, Lietuvos veterinarijos akademijos Veterinarijos institutas, Instituto g. 2, LT-56115 Kaišiadorys; tel. (8-346) 6 06 89; el. paštas: [violetamoc@one.lt](mailto:violetamoc@one.lt)

**Santrauka.** Mišrių infekcijų mechanizmai nėra visiškai ištyrinėti ir aiškūs, todėl galvijų virusinės diarėjos virusų (GVDV) infekcijos ir su ja susijusių kitų ligų epizootinių ypatumų tyrimai išlieka aktualūs. Darbo tikslas buvo nustatyti galimą GVDV poveikį rotavirusų (RV) infekcijos paplitimui lygiagrečiai tiriant šių dviejų ligų serologinį paplitimą bei epizootinius ypatumus.

Tyrimams keturiuose Šiaurės Lietuvos rajonuose atsitiktiniu būdu buvo parinkti 239 galvijų kraujo serumo mėginiai iš 11 didelių (daugiau kaip 100 galvijų) ir 40 mažų (mažiau kaip 10 galvijų) bandų. Kraujo serumo mėginiai lygiagrečiai buvo tiriami konkurencinės Ak IFA (dėl GVDV antikūnų) ir blokuojančios Ak IFA (dėl RV antikūnų) metodais.

Ištyrę antikūnų rotavirusams nešiotojų dinamiką GVDV infekcijos fone įvairaus amžiaus galvijų grupėse nustatėme, kad su amžiumi, daugėja ir RV atžvilgiu seroteigiamų gyvulių – nuo 66,7% jaunesnių kaip 3 mėnesiai prieauglio iki 92,3% karvių grupėse. Analogiškai daugėjo ir seroteigiamų GVDV atžvilgiu gyvulių, bet šiose grupėse nustatyta beveik du kartus mažiau – atitinkamai 33,3% ir 48,2%. Seroteigiamų RV atžvilgiu galvijų skaičius buvo beveik vienodas tiek didelėse, tiek ir mažose bandose (90,1–91,1 %). Antikūnų GVDV nešiotojų didelėse bandose buvo bemaž 2,7 karto daugiau negu mažose (atitinkamai 59,4% ir 22,2%,  $p \leq 0,05$ ). Detalesnė analizė parodė, kad didelėse bandose GVDV ir RV infekcija dažniau esti mišri, o mažose dažniau aptinkami tik antikūnų RV nešiotojai. Mažose bandose taip pat buvo žymiai (3,3 karto) daugiau galvijų, neturinčių antikūnų nei GVDV, nei RV ( $p < 0,05$ ).

**Raktažodžiai:** galvijų virusinės diarėjos virusai, rotavirusai, antikūnai, epizootologija.

## COMPARATIVE SURVEY OF SEROPREVALENCE OF ANTIBODIES TO BOVINE VIRAL DIARRHOEA VIRUS AND ROTAVIRUS IN CATTLE

**Summary.** The aim of this study was to estimate the prevalence of antibodies to BVDV and RV in cattle, to describe the association between the size of herd and number of seropositive animals, and to evaluate the possible influence of BVDV infection on RV spreading. Blood sera samples were taken from cows from 51 herds in 5 administrative districts of Northern Lithuania. Herds' size ranged from 3 to 400 cows. Herds with >100 cows were considered large ( $n = 11$ ) and other 40 small herds had less than 10 cattle. Blood sera samples were tested for the presence of antibodies against BVDV in commercial competition ELISA test kit. The presence of antibodies against RV was tested in modified blocking ELISA.

A comparison of serodistribution dynamics of BVDV and RV infections in cattle of different size herds has revealed the antibodies against BVDV and RV in cattle from the most of the large herds. The prevalence of antibodies to RV in large and small herds of unvaccinated cattle was comparable - 90.1% and 91.1%, respectively ( $P > 0.05$ ). The number of antibodies to BVDV carriers in large herds was 2.7 times higher than in small units ( $P < 0.05$ ). Our results have shown no association between the size of the herd and the number of seropositive to RV animals. It was estimated that 97.5 % of small and all large herds respectively were seropositive to RV. In contrast, the high dominance of BVDV infected large herds and BVDV naive small herds was found. However, any impact of BVDV infection on prevalence of antibodies to RV has been determined.

**Keywords:** bovine viral diarrhoea virus, rotavirus, antibodies, epidemiology.

**Įvadas.** Mokslinėje literatūroje dažnai skelbiami duomenys apie sinergizmo atvejus tarp GVDV ir kitų virusų, sukeliančių kvėpavimo takų ir virškinimo organų patologijas. Taip pat yra duomenų apie galimą galvijų leukemijos ir rota- bei koronavirusų sinergetinį veikimą. Tačiau tyrimų apie bendrą GVDV virusų, priskiriamų *Flaviviridae* šeimos *Pestivirus* genčiai ir plačiausiai paplitusių galvijų virškinimo patologiją sukeliančių rotavirusų (RV), infekciją beveik nėra. Be to, mišrių infekcijų mechanizmai, kurių patogenezėje svarbų vaidmenį atlieka GVDV virusai, nėra visiškai ištyrinėti ir aiškūs, nors abiejų virusų sukelti patologiniai pažeidimai virškinamajame trakte gali būti panašūs. Liga gali pasireikšti respiratoriniais ir viduriavimo sindromais

(Roth et al., 1981; Baker, 1995; Houe, 1999). Tokiais atvejais atliekant laboratorinę diagnostiką išskiriami ne tik GVDV, bet ir kitokie virusiniai bei bakteriniai patogenai. Papildomos komplikacijos dėl ūmios GVDV infekcijos išsivysto, kai GVDV į organizmą patenka su kitais patogenais. Veršeliams eksperimentiškai sukėlus mišrią GVDV infekciją su kvėpavimo takų patologiją sąlygojančiais galvijų infekcinio rinotracheito virusais (Grieg et al., 1981; Potgieter et al., 1984a) ar *Pasteurella haemolytica* (Potgieter et al., 1984b), nustatyta žymiai sunkesnė ligos forma, negu bet kuriam iš minėtų patogenų sukėlus ligą atskirai. Vadinasi, sunkesnę kliniką lemia tuo pat metu pasireiškusios ūmios GVDV infekcijos. Ne kartą nustatyta, kad 4–6 mėnesių galvijai kartu su GVDV

dažnai užsikrečia ir paragripo 3, galvijų infekcinio rinotracheito, respiratoriniais-sincitiniais ir kitais kvėpavimo takų patologiją sukeliančiais virusais (Graham et al., 1998; Šalomska ir kt., 1998; Saar, Aaver, 1998; Fulton et al., 2000). GVDV laikomas priežastiniu faktoriumi veršelių kvėpavimo ligų komplekse (Stott et al., 1980; Fulton et al., 2000). Taip pat yra duomenų, rodančių, kad, eksperimentiškai sukėlus mišrias GVDV su žarnų patogenų rota- ir koronavirusų (Van Openbosch et al., 1981) ar *Salmonella* rūšies (Wray, Roeder, 1987) infekcijas, pasireiškia sunki klinikinė ligos forma su enterito sindromu.

Manoma, kad mišrios infekcijos patogenezės pagrindas turėtų būti imunosupresija dėl trumpalaikės leukopenijos ir galbūt neutrofilų disfunkcijos, atsiradusios po ūmios GVDV infekcijos (Roth et al., 1981). Kliniškai sveikų persistentiškai infekuotų (PI) ir sergančių gleivinių liga galvijų IgG<sub>2</sub> kiekis sumažėja (Steck et al., 1980; Coulibaly et al., 1986) ir padidėja T ląstelių supresinis aktyvumas (Larsson et al., 1988). Veršeliams, sergantiems lėtine GVDV forma, sumažėja B limfocitų skaičius (Muscoplat et al., 1973). Be to, gali būti, kad GVDV stimuluoja prostaglandinų išsiskyrimą iš kraujo vienbranduolių ląstelių, dėl to slopinama limfocitų blastogenezė (Markham, Ramnaraine, 1985). Nustatyta, kad GVDV lokalizuojasi imuninės sistemos ląstelių viduje ar būna su jomis susiję (Bolin et al., 1987; Bielefeldt et al., 1987). Vadinas, GVDV gyvulio organizme, pažeisdamas imunokompetentinius organus, veikia daugelį ląstelių sistemų (Baszler et al., 1995). GVDV virusų persistencijos fone dėl sumažėjusio gyvulio organizmo atsparumo didėja jautrumas kitiems patogenams, tai yra sudaromos sąlygos atsirasti mišrioms infekcijoms (Wray, Roeder, 1987; Edwards et al., 1986; Pritchard et al., 1989). Dėl šios priežasties PI veršeliai trumpiau gyvena, jiems dažniau nei sveikiems gyvuliams pasireiškia antrinių infekcijų sukeltos pneumonijos, enteritai ir kt. (Houe et al., 1993).

Panašūs rezultatai gauti ir tiriant kitas virusines infekcijas, sukeliančias gyvulio organizme imunosupresiją. Nustatyta, kad galvijų leukozės eigoje atsiradusi organizmo imunodeficitinė būklė sudaro sąlygas antriniam sukėlėjams, taip pat ir rota-, bei koronavirusams plisti (Ačaitė J. ir kt., 1995). Deja, ne iki galo iširtas GVDV infekcijos poveikis vietiniam imuniniam atsakui. Tokie tyrimai galėtų iš dalies paaiškinti kai kurių respiratorinių ir žarnyno infekcijų, kurių metu pažeidžiamos gleivinės, patogenezę. Kadangi epitelinės ląstelės pažeidžiamos ūmioje infekcijos fazėje, galima nustatyti šiuos paviršiaus patogenus ir taip ūmios GVDV infekcijos metu skatinti bakteremiją (Reggiardo et al., 1981).

Apie GVDV užsikrėtusius gyvulius, kurie yra infekuoti ir kitais patogenais, duomenų nedaug. Nustatyta, kad tokių gyvulių, papildomai infekuotų galvijų leukozės virusu, palyginti su kontroliniais perpus sumažėjęs imunologinis reaktyvumas (Roberts et al., 1988). Mišrių su GVDV infekcijų patologija labai priklauso nuo antrinio patogeno rūšies, jo savybių. Pavyzdžiui, vienu *Pasteurella haemolytica* infekcijos atveju išsivysto fibrininė pūlinė pneumonija ir pleuritas (Potgieter et al., 1984b), kitais atvejais ši patologija nenustatoma (Brownlie, 1991). Taigi galima daryti išvadą, kad antrinė

infekcija pažeidžia gyvulio organus tada, kai ūmi pirminė GVDV infekcija sukelia įvairaus laipsnio imuninės sistemos disfunkciją. Kadangi mišrių infekcijų mechanizmai nėra visiškai ištyrinėti ir aiškūs, GVDV ir mišrių infekcijų epizootinių ypatumų tyrimai išlieka aktualūs.

**Darbo tikslas** – nustatyti galimą GVDV poveikį RV infekcijos paplitimui lygiagrečiai tiriant šių dviejų ligų serologinį paplitimą bei epizootinius ypatumus.

**Medžiagos ir metodai.** Tyrimams iš keturių Šiaurės Lietuvos rajonų atsitiktiniu būdu parinkti 239 galvijų kraujo serumo mėginiai: 11 didelių (daugiau kaip 100 galvijų) ir 40 mažų (mažiau kaip 10 galvijų) bandų. Kraujo serumo mėginiai lygiagrečiai buvo tiriami konkurencinės Ak IFA (dėl GVDV antikūnų) ir blokuojančios Ak IFA (dėl RV antikūnų) metodais. Įvertinę tai, kad RV infekcijos serologinėje diagnostikoje nėra visuotinai pripažinto standartinio metodo, tirdami pritaikėme blokuojančios IFA metodą: nustatėme optimalų antigeno skiedimą, įvertinome tiriamųjų imuninių serumų titrą ir blokavimo rodmenų pokyčius.

*GVDV infekcijos tyrimas.* Antikūnai GVDV virusams buvo nustatomi komerciniais diagnostiniais rinkiniais, pagamintais bei standartizuotais Švedijoje (IDEXX) ir Prancūzijoje (Institut Pourquier). Šie tyrimo metodai paremti principu, kai virusui specifiniai antikūnai tiriamajame mėginyje konkuruoja arba blokuoja su peroksidaze konjuguotus monokloninius virusui p80 specifinius antikūnus. IFA atlikta nuosekliai pagal diagnostinių rinkinių gamintojų metodikas. Kiekviena iš 96 IFA skirtos plokštelės duobučių buvo padengta monokloniniais antikūnais WB 103, kurie yra specifiniai GVDV baltymui p80. Tiriamaisiais serumais užpildytos IFA plokštelės duobutės ir paliktos inkubacijai. Jei mėginyje yra specifinių antikūnų, tai susidaro antigeno p80 – antikūno kompleksas. Po inkubacijos plokštelės duobutės buvo nuplaautos 0,01 mol/l fosfatiniu tirpalu (pH 7,4), turinčiu 0,05% „Tween 80“. Nuplaautos plokštelės inkubuotos su monokloniniais antikūnais WB-112 (nukreiptais prieš kitą p80 epitopą), žymėtais fermentu. Po inkubacijos, trunkančios valandą, kambario temperatūroje plokštelės vėl nuplaautos, pridėta substrato chromogeno *peroxidetetramethylbenzidine*. Reakcija sustabdyta įpilant 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Spalvos intensyvumas yra atvirkščiai proporcingas antikūnų kiekiui tiriamuosiuose mėginiuose.

Tyrimo rezultatai įvertinti spektrofotometru „Multiscanex Labsystems“ matuojant tiriamo mėginio optinį tankį (OT), kai bangos ilgis  $\lambda = 450$  nm. Rezultatams patikslinti kiekvienam tirto serumo mėginiui buvo apskaičiuotas blokavimo procentas (tiriant IDEXX diagnostiniu rinkiniu) arba konkurencinis procentas (tiriant „Institut Pourquier“ diagnostiniu rinkiniu).

Blokavimo procentas apskaičiuotas pagal formulę: blokavimo % = (NK-S/NK-TK) x 100; čia S – tiriamojo mėginio optinis tankis, NK ir TK – atitinkamai neigiamas ir teigiamas kontrolinio serumo optinis tankis. Mėginys, kurio blokavimo procentas 50 ir didesnis, vertintas kaip teigiamas.

Konkurencijos procentas apskaičiuotas pagal formulę: konkurencijos % = (OT<sub>450</sub> tiriamojo serumo/OT<sub>450</sub> kontrolinio serumo) x 100; čia OT – optinis

tankis. Mėginys, kurio konkurencinis procentas 40 arba mažesnis, vertintas kaip teigiamas.

*RV infekcijos tyrimas blokuojančios Ak IFA metodu.*

*Kontroliniai serumai.* Teigiamai kontrolei naudotas galvijų imuninis serumas prieš 356 padermės RV. Neigiamai kontrolei naudoti galvijų embrioniniai (FEVS, Biochemijos institutas, Lietuva), įprasti jūrų kiaulytės arba triušio serumai. Visi blokuojančios Ak IFA metodu tiriami serumai buvo skiesti santykiu 1:10 ir tituoti iki 1:2560.

*Antigenai.* Teigiamai kontrolei panaudota 12M RV padermė, padauginta persėjamųjų kiaulės embriono inksto SPEV ląstelių monosluoksnyje ir atskiesta nuo 1:10 iki 1:100. Neigiamai antigeno kontrolei imta sveikų SPEV ląstelių suspensija arba sveikų gyvulių 10% fekalijų suspensijos mėginiai.

*Blokuojančios Ak IFA eiga.* Blokuojanti Ak IFA atlikta metodu, aprašytu G. Angarano ir kitų mokslininkų (1984) ir modifikuotu V. Mockeliūnienės kartu su kitais tyrėjais (1998). Į kiekvieną iš 96 IFA skirtos plokštelės duobutę buvo įpilta po 100 μl specifinio sensibilizuojančiojo galvijų imunoglobulino prieš kontrolinę RV padermę „Lincoln“. Prieš tyrimą imunoglobulinai santykiu 1:800 skiesti karbonatiniu-bikarbonatiniu tirpalu (pH 9,5) ir inkubuoti 16 – 18 valandų +4°C temperatūroje. Po inkubacijos plokštelės duobutės plautos 0,01 mol/l fosfatiniu buferiniu tirpalu (pH 7,4), turinčiu 0,05% „Tween 80“ (FBT-Tw). Procedūra kartota 4 kartus po 2 minutes. Laisvasis plokštelės paviršius blokuotas FBT-Tw su 1% galvijų kraujo serumo albuminu (Sigma) ir inkubuotas 1 valandą +37°C temperatūroje. Kartu dirbta su pagalbine plokštele. Kontrolei pusė visų pirmosios eilės duobučių buvo užpildytos teigiamu galvijų imuniniu serumu, turinčiu antikūnų prieš RV 356 padermę bei neigiamais įprastais galvijų fetaliniu FEVS, jūrų kiaulytės arba triušio serumais. Į kitas duobutes pilta po 100 μl FBT (pH 7,4). Tiriamieji serumai tituoti nuo 1:10 iki 1:2560. Į visas pagalbines plokštelės duobutes pilta po 100 μl RV antigeno, atskiesto santykiu 1:10 arba 1:100. Plokštelė buvo inkubuota 1 valandą +37°C temperatūroje. Tada turinys, keičiant antgalius, perkeltas į pagrindinę

plokštelę, padengtą specifiniais sensibilizuojančiais imunoglobulinais ir paliktas inkubuoti 1 valandą +37°C temperatūroje. Po inkubacijos plokštelė plauta kaip nurodyta anksčiau ir padengta po 100 μl specifinio antirotavirusinio jūrų kiaulytės imunoglobulino, konjuguoto su krienų peroksidaze Faar ir Nakane metodu (1981). Inkubuota 30 minučių +37°C temperatūroje. Plokštelė vėl plauta, dengta po 100 μl tik fosfatiniame-citratiniame buferiniame tirpale (pH 5,0) pagaminto ortofenilendiamino (OFD) substrato ir palikta pusei valandos kambario temperatūroje tamsoje. Fermentinė reakcija stabdyta 50 μl 2 M sieros rūgšties tirpalu. Sustabdžius fermentinę reakciją, spektrofotometru „Sumal Pe-“ (Vokietija) nustatytas optinis tankis. Rezultatams patikslinti blokavimo procentas skaičiuotas pagal formulę:

$$\text{blokavimo \%} = \frac{NK - S}{NK - TK} \times 100;$$

čia S – tiriamojo mėginio optinis tankis (OT); NK ir TK – atitinkamai neigiamo ir teigiamo kontrolinio serumo optinis tankis.

**Tyrimų rezultatai.** Tyrimų duomenys parodė, kad GVDV infekcija išplitusi visose galvijų amžiaus grupėse. Dauguma bandų buvo infekuotos. Esant daug duomenų, rodančių, kad GVDV turi imunosupresinių savybių, toliau tyrime galima GVDV infekcijos poveikį labai dažnai Lietuvoje diagnozuojamai galvijų RV infekcijai. Ištyrę RV antikūnų nešiotojų dinamiką GVDV infekcijos fone įvairaus amžiaus galvijų grupėse nustatėme, kad su gyvulių amžiumi daugėja ir RV atžvilgiu seroteigiamų gyvulių: nuo 66,7% jaunesnių kaip 3 mėnesiai prieauglio iki 92,3% karvių grupėse (1 lentelė).

Analogiškai daugėjo ir seroteigiamų GVDV atžvilgiu gyvulių, bet šiose grupėse jų buvo beveik du kartus mažiau - atitinkamai 33,3% ir 48,2%. Gyvulių, seroteigiamų kartu GVDV ir RV atžvilgiu skaičius skirtingo amžiaus galvijų grupėse buvo mažesnis negu GVDV ar RV grupėse, nors dinamika buvo kaip ir GVDV monoinfekcijos grupėje.

1 lentelė. Palyginamoji GVDV ir RV infekcijų serologinio paplitimo dinamika įvairaus amžiaus galvijų grupėse

Galvijų grupės	Tirtų galvijų skaičius, vnt.	Teigiamų skaičius					
		GVDV		RV		GVDV+RV	
		vnt.	%	vnt.	%	vnt.	%
Prieauglis < 3 mėn.	9	3	33,3	6	66,7	3	33,3
Prieauglis 8-12 mėn.	10	3	30,0	9	90,0	2	20,0
Karvės	220	106	48,2	203	92,3	102	43,9
Iš viso:	239	112	46,9	217	90,8	107	44,8

Kitokia GVDV ir RV infekcijų paplitimo situacija nustatyta skirtingo dydžio galvijų bandose (2 lentelė). Jeigu seroteigiamų RV atžvilgiu gyvulių skaičius buvo beveik vienodas tiek didelėse, tiek ir mažose bandose (90,1%–91,1%), tai antikūnų GVD virusų nešiotojų

didelėse bandose buvo beveik 2,7 karto daugiau negu mažose (atitinkamai 59,4% ir 22,2%,  $p \leq 0,05$ ).

Detalesnė GVDV ir RV atžvilgiu seroteigiamų gyvulių pasiskirstymo analizė parodė, kad didelėse bandose būdingesnė mišri GVDV ir RV infekcija, o

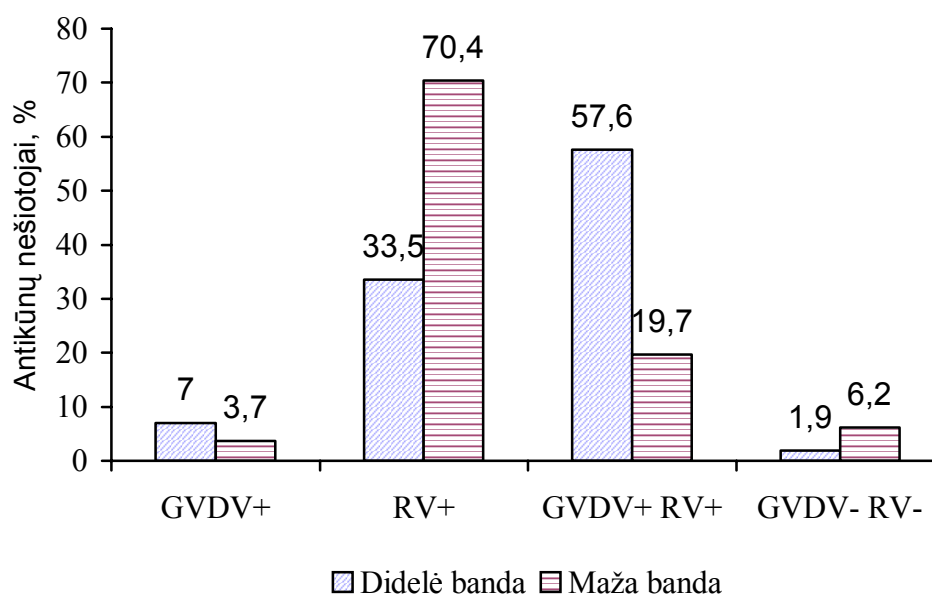
mažose dažniau aptinkami tik antikūnų rotavirusams nešiotojai. Mažose bandose taip pat buvo žymiai daugiau (3,3 karto) galvijų, neturinčių antikūnų nei prieš GVDV, nei prieš RV ( $p < 0,05$ ).

Apibendrinami tyrimo duomenis galime teigti, kad mūsų modifikuota blokuojančia IFA galima greitai ir tiksliai nustatyti seroteigiamus RV infekcijos atžvilgiu galvijus, tačiau GVDV infekcijos poveikis RV išplitimui nustatytas nebuvo (pav.).

2 lentelė. GVDV ir RV paplitimo palyginamasis įvertinimas skirtingo dydžio bandose

Banda	Tirtų galvijų skaičius, vnt.	Teigiamų skaičius					
		GVDV		RV		GVDV+RV	
		vnt.	%	vnt.	%	vnt.	%
Maža	81	18	22,2*	73	90,1	16	19,7*
Didelė	158	94	59,4*	144	91,1	91	57,6*
Iš viso:	239	112	46,9	217	90,8	107	44,8

Pastaba. \*  $p \leq 0,05$



Pav. GVDV, RV ir mišrios infekcijos antikūnų nešiotojų pasiskirstymas bandose

Analizuojant, kokia dalis bandų gyvulių yra turėję kontaktų su GVDV ar RV, pastaroji infekcija nustatyta beveik visose, išskyrus vieną, bandose, tuo tarpu net 27 (67,5%) mažos bandos nebuvo užkrėstos GVDV.

Antikūnų rotavirusams nešiotojų buvo visose į šį tyrimą etapą įtrauktose bandose, o turėjusių kontaktą su GVDV galvijų buvo net 90,9% didelių bandų (3 lentelė).

3 lentelė. GVDV ir RV infekcija skirtingo dydžio bandose

Banda	GVDV infekcija				RV infekcija			
	Užkrėstų bandų skaičius		Sveikų bandų skaičius		Užkrėstų bandų skaičius		Sveikų bandų skaičius	
	vnt.	%	vnt.	%	vnt.	%	vnt.	%
Maža, 40 vnt.	13	32,5	27	67,5	39	97,5	1	2,6
Didelė, 11 vnt.	10	90,9	1	9,1	11	100,0	-	-

**Tyrimų rezultatų aptarimas.** Literatūroje yra duomenų apie GVDV imunosupresines savybes bei išreikštą tropizmą imuninės sistemos ląstelėms, todėl GVDV laikomi pirmine priežastimi daugelio, taip pat ir kvėpavimo organų bei virškinamojo trakto ligų etiologijoje (Traven et al., 1991; Potgieter, 1995). Tačiau literatūroje labai maža duomenų apie mišrią GVDV ir RV

infekcijas arba GVDV įtaką RV enteritams (Cavirani et al., 1995; Saar, Aaver, 1998). Taigi vertinome galimą GVDV infekcijos poveikį RV infekcijai kartu tirdami šių dviejų ligų epizootinius ypatumus. Įvertinę tai, kad RV infekcijos serologinėje diagnostikoje nėra visuotinai pripažinto standartinio metodo, pritaikėme blokuojančios IFA metodą, nustatėme optimalų antigeno skiedimą bei

įvertindami tiriamųjų imuninių serumų titrą ir blokavimo rodmenų pokyčius. Palyginę GVDV ir RV infekcijų serologinio paplitimo dinamiką įvairaus amžiaus galvijų grupėse bei skirtingo dydžio bandose nustatėme, kad didelėse bandose dauguma galvijų turėjo antikūnų GVDV virusams ir rotavirusams. Tuo tarpu mažoms bandoms būdingesnė buvo RV monoinfekcija. Taip pat nustatyta, kad RV yra labai išplitę tiek didelėse, tiek ir mažose bandose. RV išplitę ir kitų šalių bandose. Pavyzdžiui, Estijoje net 69,8% veršelių enteritų priežastis buvo RV, o viena iš dažniausiai pasitaikančių mišriųjų infekcijų buvo galvijų I tipo herpesvirusų, galvijų virusinės diarėjos ir rotavirusų asociacija (Saar, Aaver, 1998). Labai dažnai RV aptinkami ir Švedijos bei Italijos galvijų bandose, kur taip pat nustatoma mišri GVDV, RV ir (ar) kitų virusų asocijuota infekcija (Cavirani et al., 1995; Verdier Klingenberg, Svensson, 1998). Mūsų atlikti palyginamieji GVDV ir RV infekcijų epizootiniai tyrimai parodė, kad, skirtingai nei GVDV, RV gali cirkuluoti net tokiose bandose, kur laikomos tik 3–5 karvės. Žinoma, kad enteritą RV dažniausiai sukelia veršeliams iki dviejų amžiaus savaičių, tuo tarpu vyresniems gyvuliams būdinga subklinikinė infekcija (Verdier Klingenberg, Svensson, 1998; El-Attar et al., 2002). Taip pat yra nustatyta, kad galvijai gali užsikrėsti žmonių, kiaulių ar mėsėdžių RV, kurie dažnai nesukelia enterito net ir jauniems veršeliams (Theil, McCloskey, 1989; Otto et al., 1999; Varshney et al., 2002). Atsižvelgdami į tai, kad mažose fermose galvijai gali būti laikomi vienose patalpose su kitų rūšių gyvuliais (pavyzdžiui, kiaulėmis), dažnai turi kontaktą su šunimis ir katėmis, manome, kad didelis RV infekcijos seropaplitimas mažose bandose gali būti kontaktų su kitų rūšių gyvuliais padarinys.

Apibendrinami tyrimų duomenis galime teigti, kad mūsų modifikuota blokuojančia Ak IFA galima greitai ir tiksliai nustatyti seroteigiamus RV infekcijos atžvilgiu galvijus. Visose galvijų grupėse antikūnų rotavirusams nešiotųjų buvo rasta žymiai daugiau, negu prieš antikūnų GVDV virusams nešiotųjų. Didelėse bandose galvijai dažniausiai turėjo antikūnų abiems virusams, tuo tarpu mažose – būdingesnė RV monoinfekcija. Nors beveik visose bandose buvo rasta antikūnų rotavirusams nešiotųjų, GVDV apkrėstų mažų bandų buvo tik 32,5%. Nepaisant skirtingo RV ir GVDV paplitimo mažose bandose, tiesioginis GVDV infekcijos poveikis RV išplitimui nenustatytas.

#### Išvados

1. Didelėse bandose dauguma galvijų turėjo antikūnų ir prieš GVDV virusus ir rotavirusus, tuo tarpu mažose – būdingesnė RV monoinfekcija.

2. Nepaisant skirtingo GVDV ir RV paplitimo mažose bandose, GVDV infekcijos poveikis RV išplitimui nenustatytas.

#### Literatūra

1. Ačaitė J., Dringelienė A., Markevičius A., Sadauskas P., Pieškus J. Imunosupresija, ekologinė aplinka ir virusinės infekcijos. Šiuolaikinės imunologijos problemos. Imunologijos instituto darbai. Vilnius. 1995. P. 38-46.
2. Angarano G., Ladago V., Materi A.M. Comparison of three enzyme-linked immunosorbent assays suitable for the detection of antibodies to rotaviruses in epidemiological studies. *European Journal of Clinical Microbiology*. 1984. Vol. 6. P. 516-520.

3. Baker J.C. The clinical manifestations of bovine viral diarrhoea infection. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1995. Vol. 11. P. 425-445.
4. Baszler T.V., Evermann J.E., Kaylor P.S., Byington T.C., Dilbeck P.M. Diagnosis of naturally occurring bovine viral diarrhoea virus infections in ruminants using monoclonal antibody – based immunochemistry. *Veterinary Pathology*. 1995. Vol. 32. P. 609-618.
5. Bielefeldt Ohmann H., Rønsholt L., Bloch B. Demonstration of bovine viral diarrhoea virus in peripheral blood mononuclear of persistently infected, clinically normal cattle. *Journal of General Virology*. 1987. Vol. 68. P. 1971-1982.
6. Bolin S.R., Sacks J.M., Crowder S.V. Frequency of association of non cytopathic bovine viral diarrhoea virus with mononuclear leukocytes from persistently infected cattle. *American Journal of Veterinary Research*. 1987. Vol. 48. P. 1441-1445.
7. Brownlie J. The pathways for bovine virus diarrhoea virus biotypes in the pathogenesis of disease. *Archives of Virology*. 1991. Suppl. N 3. P. 79-96.
8. Cavirani S., Allegri G., Foni E., Chiocco D., Boldini M., Cavalca M., Flammini C.F. A serological survey against different viral antigens in some buffalo dairy herds in Northern Italy. *Atti della Società Italiana di Buiatria*. 1995. Vol. 27. P. 243-251.
9. Coulbaly C.O.Z., Liess B., Trautwein G., Schleuter G. Quantitative analysis of immunoglobulins G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in blood samples of cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Journal of Veterinary Medicine*. 1986. Vol. 33. P. 685-696.
10. Edwards S., Wood L., Hewitt-Taylor C., Drew T.W. Evidence for an immunocompromising effect of bovine pestivirus on bovid herpesvirus 1 vaccination. *Veterinary Research Communications*. 1986. Vol. 10. P. 297-302.
11. El-Attar L., Dhaliwal W., Ituriza-Gomara M., Bridger J.C. Identification and molecular characterization of a bovine G3 rotavirus which causes age-independent diarrhea in cattle. *Journal of Clinical Microbiology*. 2002. Vol. 40. N. 3. P. 937-942.
12. Fulton R.W., Purdy C.W., Confer A.W., Saliki J.T., Loan R.W., Briggs R.E., Burge L.J. Bovine viral diarrhoea viral infections in feeder calves with respiratory diseases: interactions with *Pasteurella spp.*, parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 2000. Vol. 64 (3). P. 151-159.
13. Graham D.A., McShane J., Mawkinney K.A., McLaren I.E., Adair B.M., Merza M. Evaluation of a single dilution ELISA system for detection of seroconversion to bovine viral diarrhoea virus, bovine respiratory syncytial virus, parainfluenza-3 virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus: comparison with testing by virus neutralization and hemagglutination inhibition. *Journal of Veterinary Diagnostic*. 1998. Vol. 10. N. 1. P. 43-48.
14. Grieg A., Gibson I.R., Nettleton P.F., Herring J.A. Disease outbreak in calves caused by a mixed infection with infectious bovine rhinotracheitis virus and bovine virus diarrhoea virus. *Veterinary Record*. 1981. Vol. 108. P. 480.
15. Houe H., Pedersen K.M., Meyling A. The effect of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infection on conception rate. *Preventive Veterinary Medicine*. 1993. Vol. 15. P. 117-123.
16. Houe H. Epidemiological features and economical importance of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections. *Veterinary Microbiology*. 1999. Vol. 64. P. 89-107.
17. Larson B., Fossum C., Alenius S. A cellular analysis of immunosuppression in cattle with mucosal disease. *Research of Veterinary Science*. 1988. Vol. 44. P. 71-75.
18. Markham R.J.F., Ramnaraine M.L. Release of immunosuppressive substances from tissue culture cells infected with bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research*. 1985. Vol. 46. P. 879-883.
19. Mockeliūnienė V., Šalomska A., Akūnytė O. Rotavirusų antikūnų titrų nustatymas kraujo serumuose blokuojančios imunofermeninės analizės metodu. *Veterinarija ir zootechnika*. 1998. N. 5(27). P. 37-39.
20. Muscoplat C.C., Johnson D.W., Teuscher E. Surface immunoglobulin of circulating lymphocytes in chronic bovine diarrhoea: abnormalities in cell populations and cell function. *American Journal of Veterinary Research*. 1973. Vol. 34. P. 1101-1104.
21. Otto P., Schulze P., Herbst W. Demonstration of group C rotaviruses in fecal samples of diarrheic dogs in Germany. *Archives of Virology*. 1999. Vol. 144. N. 12. P. 2467-2473.
22. Potgieter L.N.D., McCracken M.D., Hopkins F.M., Walker R.D. Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on the distribution of infectious bovine rhinotracheitis virus in calves. *American Journal of Veterinary Research*. 1984a. Vol. 45. P. 687-690.

23. Potgieter L.N.D., McCracken M.D., Hopkins F.M., Walker R.D., Guy J.S. Experimental production of bovine respiratory tract disease with bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research*. 1984b. Vol. 45. P. 1582-1585.
24. Potgieter L. Immunology of bovine viral diarrhoea virus. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1995. Vol. 11. P. 501-520.
25. Pritchard G.C., Borland E.D., Wood L., Pritchard D.G. Severe disease in a dairy herd associated with acute infection with bovine virus diarrhoea virus, *Leptospira hardjo* and *Coxiella burnetti*. *Veterinary Record*. 1989. Vol. 124. P. 625-629.
26. Reggiardo C., Kaeberle M.L. Detection of bacteremia in cattle inoculated with bovine viral diarrhoea virus. *American Journal of Veterinary Research*. 1981. Vol. 42. P. 218-221.
27. Roberts D.H., Lucas M.H., Wibberley G., Westcott D. Response of cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus to bovine leukosis virus. *Veterinary Record*. 1988. Vol. 122. P. 293-296.
28. Roth J.A., Kaeberle M.L., Griffith R.W. Effects of BVDV on bovine polymorphonuclear leukocyte function. *American Journal of Veterinary Research*. 1981. Vol. 42. P. 244-250.
29. Saar T., Aaver E. Respiratory and enteric virus infections in calves. *Acta Veterinaria Baltica*. 1998. P. 22-23.
30. Steck F., Lazary S., Fey H., Wandeler A., Huggler C., Oppliger G., Baumberger H., Kaderli R., Martig J. Immune responsiveness in cattle fatally affected by bovine virus diarrhoea-mucosal disease. *Zentralblatt für Veterinärmedizin. Reihe B*. 1980. Vol. 27. P. 429-445.
31. Stott E. J., Thomas L. H., Collins A. P., Jebett N. J., Smith G. S., Luther P. D., Caswell R. A survey of virus infections of the respiratory tract of cattle and their association with disease. *Journal of Hygiene*. 1980. Vol. 85. P. 257-270.
32. Šalomska A., Ščerbavičius R., Tamašauskienė B., Remeikis A.V. Prevalence of antibodies to bovine herpesvirus type-1 in the Lithuanian cattle. *Acta Veterinaria Baltica*. 1998. P. 13-15.
33. Theil K.W., McCloskey C.M. Molecular epidemiology and subgroup determination of bovine group A rotaviruses associated with diarrhoea in dairy and beef calves. *Journal of Clinical Microbiology*. 1989. Vol. 27. N. 1. P. 126-131.
34. Traven M., Alenius S., Fossum C., Larsson B. Primary bovine viral diarrhoea virus infection in calves following direct contact with a persistently viraemic calf. *Journal of Veterinary Medicine. Series B*. 1991. Vol. 38. P. 453-462.
35. Van Openbosch E., Welleman S.G., Oudewater J. Interaction of GVDV, corona and rotavirus in neonatal calf diarrhoea: experimental infections in newborn calves. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*. 1981. Vol. 50. P. 163-173.
36. Varshney B., Jagannath M.R., Vethanayagam R.R., Kodhandharaman S., Jagannath H.V., Gowda K., Singh D.K., Durga Rao C. Prevalence of, and antigenic variation in, serotype G10 rotaviruses and detection of serotype G3 strains in diarrhoeic calves: implications for the origin of G10 P11 or P11 type reassortant asymptomatic strains in newborn children in India. *Archives of Virology*. 2002. Vol. 147. P. 143-165.
37. Verdier Klingenberg K., Svensson L. Group A rotavirus as a cause of neonatal calf enteritis in Sweden. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 1998. Vol. 39. N. 2. P. 195-199.
38. Wray C., Roeder P.L. Effect of bovine virus diarrhoea-mucosal disease infection on salmonella infection in calves. *Research in Veterinary Science*. 1987. Vol. 42. P. 213-218.