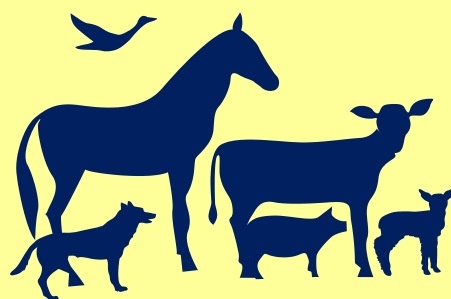


BIULETYN DLA DORADCÓW ODR



nr 1/2024

WYDAWNICTWO

Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego

Puławy 2024

BIULETYN
DLA
DORADCÓW ODR

Redakcja:

prof. dr hab. Stanisław Winiarczyk

prof. dr hab. Mirosław Polak

Korekta:

mgr Renata Wydra

Dyrekcja Instytutu składa podziękowania Koleżankom i Kolegom z Centrum Doradztwa Rolniczego oraz Ośrodków Doradztwa Rolniczego za podjęcie współpracy i współinicjowanie określonych działań

Wydawnictwo Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Nakład 100 egzemplarzy

Wszelkie prawa zastrzeżone

SPIS TREŚCI

SEKCJA RÓŻNE	5
KONTROLA JAKOŚCI IMMUNOLOGICZNYCH WETERYNARYJNYCH PRODUKTÓW LECZNICZYCH W POLSCE	5
ZAWARTOŚĆ PROMIENIOTWÓRCZEGO IZOTOPU STRONTU 90 W PASZACH	13
JAK SEKWENCJONOWANIE GENOMOWE (WGS) MIKROORGANIZMÓW MOŻE WPŁYNAĆ NA POPRAWĘ BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOSCI I PASZ?	22
SEKCJA BYDŁO	34
STRATEGIA ZWALCZANIA PRYSZCZYCY W EUROPIE	34
SEKCJA DRÓB	53
WIRUS ZACHODNIEGO NILU - AKTUALNA SYTUACJA	53

SEKCJA RÓŻNE

KONTROLA JAKOŚCI IMMUNOLOGICZNYCH WETERYNARYJNYCH PRODUKTÓW LECZNICZYCH W POLSCE

Katarzyna Pasik, Ewa Borzym

Zakład Farmacji Weterynaryjnej

Wstęp

Immunologiczne weterynaryjne produkty lecznicze (IWPL), w Europie, znajdują się pod ścisłą kontrolą Państwowych Laboratoriów Kontroli Produktów Leczniczych (ang. Official Medicines Control Laboratories, OMCL) zrzeszonych w tzw. sieć GEON (ang. General European OMCL Network) i koordynowanych przez Europejski Dyrektoriat ds. Jakości Leków i Ochrony Zdrowia (EDQM) podległy Radzie Europy, z siedzibą w Strasburgu. EDQM działa we współpracy m.in. z Europejską Agencją Leków (ang. European Medicines Agency, EMA), a także Światową Organizacją Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO). Wszystkie te instytucje mają jeden wspólny cel - ochronę zdrowia publicznego w Europie i na całym świecie. Najistotniejszym efektem harmonizacji prawa farmaceutycznego w Europie było wprowadzenie procedury wzajemnego uznawania wyników analiz OMCL (MRP - mutual recognition procedure), honorowanych na terenie całej Unii Europejskiej. Organem odpowiedzialnym za krajowe dopuszczenie szczepionek do obrotu jest Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (URPLWMIPB).

Zadaniem sieci GEON jest weryfikacja jakości produktu leczniczego poprzez przeprowadzanie kontrolnych badań jakościowych. Każdy OMCL jest instytucją publiczną, wykonującą badania laboratoryjne prowadzone w interesie urzędowego nadzoru rynku produktów leczniczych w odniesieniu

do bezpieczeństwa ludzi i/lub zwierząt przed i/lub po wprowadzeniu do obrotu odpowiednich leków (Tab. 1). Wszystkie laboratoria OMCL muszą być wolne od konfliktu interesów i powinny prowadzić badania kontrolne niezależnie od osób zaangażowanych w proces opracowywania danego produktu. W ramach GEON-u wyłoniła się również sieć weterynaryjna - Veterinary Batch Release Network (VBRN), która składa się z laboratoriów OMCL przeprowadzających kontrolę immunologicznych weterynaryjnych produktów leczniczych.

Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy w Puławach prowadzi kontrolę szczepionek weterynaryjnych w Polsce od ponad 70 lat, natomiast począwszy od stycznia 2017 r. przeprowadza tę kontrolę jako pełnoprawny członek sieci GEON, jedyny weterynaryjny OMCL w naszym kraju.

Tabela 1. Główne zadania laboratoriów OMCL w sieci GEON.

Lp.	Lista zadań laboratoriów OMCL
1	Kontrola jakości produktów leczniczych przed i po wprowadzeniu do obrotu
2	Ochrona zdrowia publicznego i zdrowia zwierząt
3	Ekspertyza w ocenie jakościowej części dokumentacji rejestracyjnej dotyczącej dopuszczenia produktów leczniczych do obrotu
4	Analiza leków stosowanych nielegalnie oraz leków zafałszowanych
5	Wsparcie w zakresie nadzoru nad bezpieczeństwem farmakoterapii (ang. Pharmacovigilance)
6	Wsparcie kontroli GMP (ang. Good Manufacturing Practice, dobra praktyka produkcyjna)
7	Udział w opracowaniu Farmakopei Europejskiej oraz opracowanie materiałów odniesienia
8	Udział w Programie Normalizacji Biologicznej (ang. Biological Standardisation Programme)
9	Badania realizowane w ramach współpracy laboratoriów OMCL

Kontrola seryjna wstępna IWPL w Polsce

Kontrola seryjna wstępna (KSW) IWPL oznacza kontrolę każdej serii wytworzonego produktu leczniczego weterynaryjnego immunologicznego przed wprowadzeniem go do obrotu, zgodnie z art. 2 pkt. 9 Prawa Farmaceutycznego. Na tej podstawie PIWet-PIB wydaje krajowe orzeczenia KSW. Ponadto dzięki otrzymaniu atestacji EDQM, Instytut wydaje także certyfikaty europejskie: OBPR - urzędowego uznania przeglądu protokołu serii oraz OCABR - urzędowej kontroli zwolnienia serii.

Certyfikaty OBPR są wydawane zgodnie z artykułem 128 Rozporządzenia 2019/6 PE i Rady (UE), ust. 1. Zezwala on państwu członkowskiemu na zwrócenie się do posiadacza pozwolenia na dopuszczenie do obrotu o dokumentację kontroli IWPL potwierdzającą, że testy kontrolne zostały przeprowadzone zgodnie z metodami określonymi w pozwoleniu na dopuszczenie do obrotu (Ryc. 1). Na podstawie przeglądu tej dokumentacji, laboratorium OMCL wydaje certyfikat OBPR (artykuł 128, ust. 1).

Laboratoryjnym badaniom kontrolnym w ramach KSW poddawane są natomiast wyłącznie wybrane produkty, znajdujące się na tzw. „krótkiej liście IWPL, dla których uzgodniono listę parametrów podlegających ocenie oraz wykaz powiązanych wytycznych dla OMCL” (ang. Short list of IVMPs for which a restricted test list for OMCLs has been agreed and list of associated guidelines for OMCLs) (EU Administrative Procedure for Application of Official Control Authority Batch Release of Immunological Veterinary Medicinal Products According to Article 128) (Tab. 2). Aby taki immunologiczny weterynaryjny produkt leczniczy mógł zostać wprowadzony do obrotu, musi otrzymać certyfikat OCABR. OCABR-y są wydawane na podstawie artykułu 128 Rozporządzenia 2019/6 PE i Rady (UE), ust. 3 (artykuł 128, ust. 3). Zgodnie z procedurą MRP, OCABR podobnie jak OBPR wydany przez dowolny OMCL

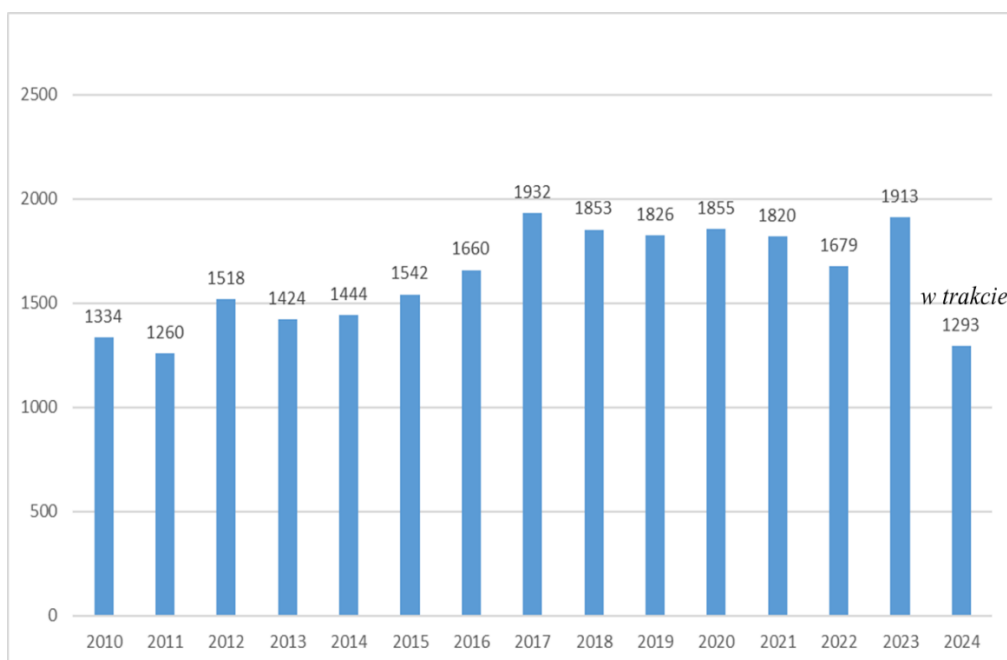
musi być wzajemnie uznawany przez wszystkie OMCL-e z innych państw członkowskich. W Europie istnieje osiem OMCL-i, które mogą wydawać certyfikaty OCABR dla IWPL, w tym jeden polski OMCL - PIWet-PIB.

W poprzednim roku kalendarzowym - 2023, OMCL PIWet-PIB wydał łącznie 1913 certyfikatów (Ryc. 1), z czego orzeczenia krajowe stanowią wyłącznie 31%. Większość kontrolowanych serii IWPL uzyskało europejskie certyfikaty OBPR i OCABR.

Tabela 2. Wykaz EDQM, zawierający listę szczepionek weterynaryjnych dla których uzgodniono ograniczoną listę parametrów podlegających ocenie przez laboratoria OMCL, celem wydania certyfikatu kontroli jakości serii - OCABR.

Lista IWPL dla których wydawane są certyfikaty OCABR	Kontrolowane parametry jakości IWPL	
	inaktywowanych	żywych
IWPL przeciwko chorobie Aujeszky'ego	wygląd, moc	wygląd, rozpuszczalność miano wirusa, test na obecność obcego pestiwirusa
IWPL przeciwko brucelozie	wygląd, tożsamość, mikroorganizmy obce, określenie fazy dysocjacji, liczba żywych bakterii, rozpuszczalność	
IWPL przeciwko grypie koni	wygląd, moc	wygląd, tożsamość, miano wirusa
IWPL przeciwko zakaźnemu zapaleniu nosa i tchawicy bydła	wygląd, moc	wygląd, rozpuszczalność, miano wirusa, test na obecność obcego pestiwirusa
IWPL przeciwko chorobie Newcastle	wygląd, moc	wygląd, rozpuszczalność, tożsamość, miano wirusa
IWPL przeciwko wściekliznie	wygląd, moc	wygląd, miano wirusa
IWPL przeciwko różycy świń	wygląd, rozpuszczalność, liczba żywych bakterii, czystość, tożsamość	inaktywowane IWPL nie podlegają kontroli

Lista IWPL dla których wydawane są certyfikaty OCABR	Kontrolowane parametry jakości IWPL	
	inaktywowanych	żywych
Preparaty Bruceliny	wygląd, efekt uwrażliwienia, moc	
Tuberkulina PPD, ptasia	wygląd, efekt uwrażliwienia, moc	
Tuberkulina PPD, bydłęca	wygląd, efekt uwrażliwienia, moc	



Rycina 1. Liczba certyfikatów i orzeczeń KSW IWPL wydanych przez polski OMCL w latach 2010-2024.

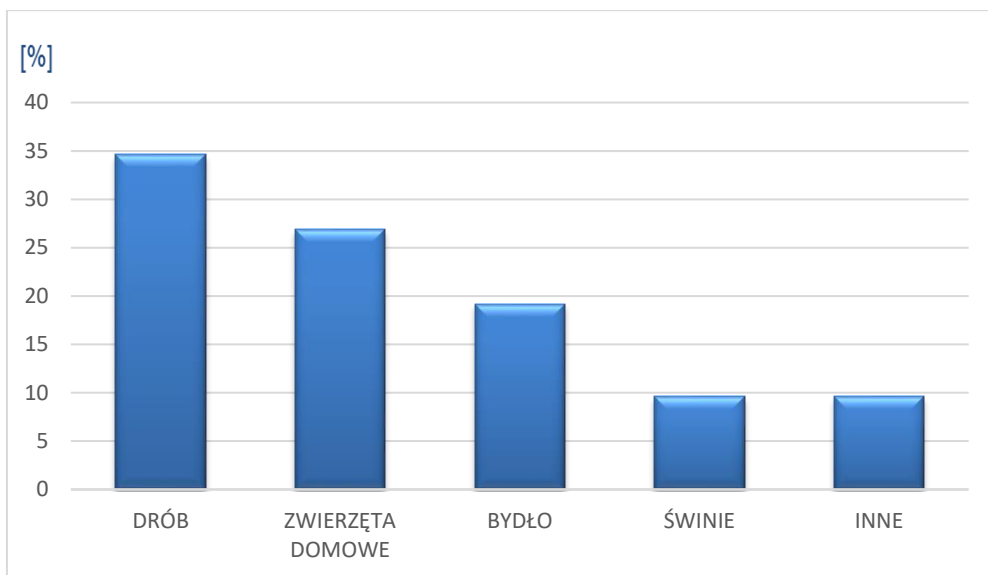
Kontrola jakości IWPL w Polsce - badania monitoringowe

PIWet-PIB jest jednym z niewielu laboratoriów OMCL w Europie, który sprawuje dodatkowo kontrolę nad IWPL znajdującymi się na rynku (ang. Post Marketing Surveillance studies - PMS). Zgodnie z art. 118 Prawa farmaceutycznego z 06.09.2001 i art. 1 Prawa farmaceutycznego z 19.12.2014 r. nadzór nad jakością IWPL na rynku polskim jest obowiązkiem Głównego Lekarza Weterynarii (GLW), który pełni protektorat nad realizacją monitoringu rynku szczepionek. Próbkę do badań są pobierane z hurtowni weterynaryjnych

na terenie całej Polski przez Wojewódzkich Inspektorów Weterynarii (WIW) ds. nadzoru farmaceutycznego. Badania prowadzone są zgodnie z wytycznymi aktualnego wydania Farmakopei Europejskiej, na podstawie specyfikacji z *dossier* producenta. Jeżeli wyniki badań nie są zgodne ze specyfikacją producenta, GLW decyduje się wycofać dany IWPL z obrotu w Polsce.

Największy udział kontrolowanych szczepionek stanowią co roku IWPL dla drobiu (ok. 35%), co też jest zapewne efektem wielkości produkcji drobiarskiej w Polsce - zgodnie z danymi Eurostatu, nasz kraj od lat jest liderem w produkcji tego gatunku zwierząt w Europie (Ryc. 2). Ponadto, kontrola PMS obejmuje także IWPL dla zwierząt domowych (psy, koty), zwierząt gospodarskich (bydło, świnie) i innych. W przypadku niezgodności wyników oceny opakowania i ulotki informacyjnej z zatwierdzonym wzorem - GLW przesyła taką informację do podmiotu odpowiedzialnego (MAH) w celu skorygowania błędów.

Od roku 2012 ograniczone zostały badania laboratoryjne na zwierzętach m.in. w kontekście monitoringu rynku krajowego szczepionek. Wiąże się to ściśle ze strategią 3Rs (replace, reduce, and refine), czyli „zastąp, zmniejsz i udoskonal” tak, aby maksymalnie ograniczyć liczbę badań laboratoryjnych na zwierzętach. Myślą przewodnią 3Rs jest propagowanie metod alternatywnych, np. ELISA, metod *in-vitro* czy z użyciem przeciwciał monoklonalnych, zastępujących modelowe badania na zwierzętach, takie jak moc szczepionki czy skuteczność inaktywacji.



Rycina 2. Procentowy udział IWPL dla różnych gatunków zwierząt, badanych w ramach monitoringu PMS w latach 2010-2021.

Ponadto, OMCL PIWet-PIB bierze udział w programie monitoringowych badań jakości IWPL autoryzowanych w procedurze centralnej CAP-testing (ang. Centrally Authorized Product Testing). Jest to projekt koordynowany przez EDQM, który organizuje przesyłanie próbek z różnych państw UE do kilku laboratoriów OMCL jednocześnie. Efektem negatywnej oceny jakości szczepionek jest wycofanie danej serii z obrotu europejskiego.

Piśmiennictwo

1. Artykuł 118 ustawy Prawo Farmaceutyczne z dnia 06.09.2001, Dz.U. 2001, 126, poz. 1381 z późn. zm.
2. Artykuł 128 rozporządzenia 2019/6 Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) ust. 1 i 3
3. Artykuł 2 pkt. 9, art. 65 ust. 4 pkt. 2, st. 5,7 i 9 ustawy z dnia 6 września 2001 r. Prawo Farmaceutyczne

4. EU Administrative Procedure for Official Batch Release of Immunological Veterinary Medicinal Products in Application of Article 128 of Regulation (EU) 2019/6
5. Eurostat: https://ec.europa.eu/info/sites/default/files/food-farming-fisheries/farming/documents/poultry-meat-dashboard_en.pdf, data updated September 2024
6. Fijałek, Z. (2010). Role of the National Medicines Institute in quality assurances and safety of medicinal products and medical devices. *Przegl. Med. Uniw. Rzeszowskiego i Narod. Inst. Lek. w Warszawie* 2010, 3, 259–270. Pasik i wsp., 2019
7. Kretzschmar, E., Muckenfuss, H., Pfliederer, M. (2018). Official batch control of influenza vaccines: Is it still useful?. *Vaccine*, 36(17), 2364–2370. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.02.078>
8. Kumar, S., Pal Singh, M., Bharti, V.K., Pandey, R.P. (2018). Quality control of vaccines-A journey from classical approach to 3Rs. *Microbiol Curr Res.* 2, 2, 4–13

ZAWARTOŚĆ PROMIENIOTWÓRCZEGO IZOTOPU STRONTU 90 W PASZACH

Paweł Czerski, Magdalena Gembal, Małgorzata Warenik-Bany

Zakład Radiobiologii

Wstęp

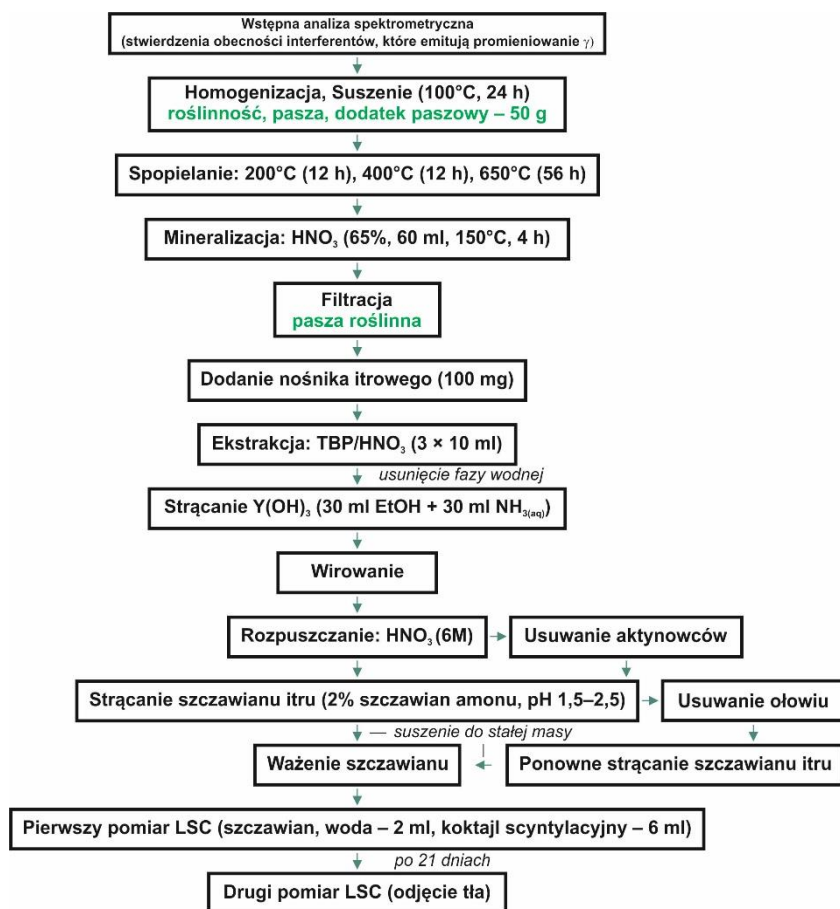
Pasze dla zwierząt są jednym z najważniejszych ogniw łańcucha żywieniowego. Od ich jakości zależy jakość produktów spożywczych pozyskiwanych od zwierząt (mleko, jaja, mięso). Jakość pasz ma również znaczenie w przypadku skarmiania zwierząt domowych (papugi, koty, psy, króliki itp.) ponieważ wpływa na ich kondycję fizyczną i odporność na choroby. W wyniku działania ludzi często dochodzi do zanieczyszczenia pasz na etapie produkcji lub przechowywania. Jednym z poważniejszych zanieczyszczeń pasz są pierwiastki promieniotwórcze uwalniane do środowiska w wyniku testów broni jądrowej oraz awarii w elektrowniach nuklearnych (Czarnobyl 1986, Fukushima 2011). Najczęściej do środowiska uwalniane są promieniotwórcze izotopy cezu (^{134}Cs , ^{137}Cs), jodu (^{131}I) oraz strontu (^{90}Sr). W następstwie zdarzeń radiacyjnych ^{90}Sr może skażać różne elementy środowiska, a w konsekwencji być włączanym do łańcucha żywieniowego. Stront jest chemicznie podobny do wapnia i dlatego ma wysoki współczynnik przenikania do układu kostnego ludzi i zwierząt. Wytwarzane przez ten radionuklid promieniowanie jonizujące prowadzi do rozwoju białaczki i nowotworów kości oraz przyległych tkanek miękkich. Sztucznie wytwarzany ^{90}Sr jest czystym β -emiterem (o okresie półtrwania 28,8 lat) i fakt ten nakłada ograniczenia na procedurę jego oznaczania, polegającą na chemicznym oddzieleniu strontu od innych pierwiastków poprzez wymianę jonową, ekstrakcję lub strącanie, w niektórych przypadkach połączenie tych technik i późniejsze wykrywanie na dostępnych

instrumentach (licznik proporcjonalny gazowy lub cieczowy licznik scyntylicyjny).

Materiał i metody

Do badań wykorzystano łącznie 20 próbek pasz. W celu przebadania możliwie szerokiego zakresu stosowanych produktów paszowych dostępnych na rynku, 10 próbek stanowiły pasze z przeznaczeniem dla zwierząt domowych, a pozostałe 10 próbek stanowiły pasze z przeznaczeniem dla zwierząt hodowlanych.

W badaniach zastosowano pośrednią metodę oznaczania ^{90}Sr opartą na pomiarze aktywności izotopu ^{90}Y (produkt rozpadu promieniotwórczego ^{90}Sr). Wstępnym etapem badań były analizy spektrometryczne promieniowania gamma w celu stwierdzenia bądź wykluczenia obecności interferentów, które emitują promieniowanie gamma. Następnie próbki spopieleno w piecu, a otrzymany popiół roztwarzano przy użyciu stężonego kwasu azotowego. Kolejnymi etapami były mineralizacja i ekstrakcja. W przypadku stwierdzenia obecności interferentów prowadzono dodatkowe oczyszczanie z wykorzystaniem odpowiedniego jonitu Dowex (żywica anionowymienna). Po oczyszczeniu, itr strącono w postaci szczawianów. W ostatnim etapie osad szczawianu itru mieszano z ciekłym scyntylatorem i wykonywano pomiary aktywności ^{90}Y przy użyciu ultraniskotłowego licznika ciekłoscyntylicyjnego Quantulus 1220™. Schemat postępowania przedstawiono na rycinie 1.



Rycina 1. Schemat radiochemicznej metody oznaczania ^{90}Sr .

Podczas analiz 20 próbek pasz, w przypadku kilku z nich natrafiono na trudności analityczne, wynikające z obecności radionuklidów pierwotnych obecnych w próbce powodujących jej zanieczyszczenie. W celu sprawdzenia skuteczności metody, po wstępnej analizie spektrometrycznej i stwierdzeniu w danej próbce interferentów, wykonywano analizę w dwóch powtórzeniach. W pierwszym powtórzeniu wykonywano analizę bez zastosowania dodatkowego oczyszczania, a w drugim powtórzeniu z zastosowaniem etapu oczyszczania do usuwania interferentów (aktywności, ołów).

Wyniki

W tabelach 1 i 2 przedstawiono wyniki badań dla wszystkich próbek. W 19 próbkach stężenie było poniżej MDA (minimalna mierzalna aktywność), która dla stosowanej metody wynosi 0,06 Bq/kg. Uzyskane widma przebadanych próbek pokrywały się z poziomem tła detektora (Ryc. 2), co oznacza wynik ujemny.

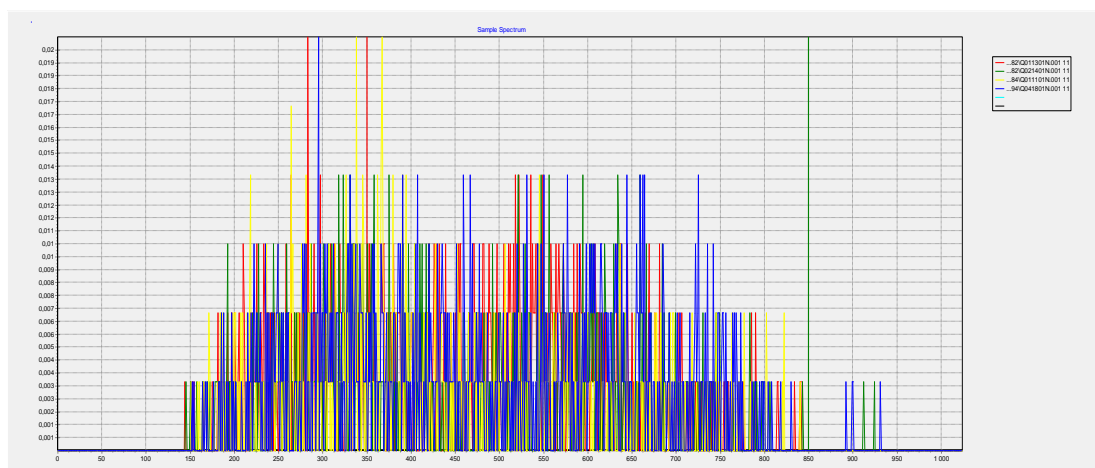
Tabela 1. Wyniki oznaczeń ^{90}Sr w paszach dla zwierząt domowych.

Nr	Pasze dla zwierząt domowych	Stężenie ^{90}Sr [Bq/kg]
1	Pasza D1 - "ciastka dla psa"	<0,06
2	Pasza D2 - "karma dla chomika"	<0,06
3	Pasza D3 - "karma dla papużki"	<0,06
4	Pasza D4 - "smakers dla gryzoni"	<0,06
5	Pasza D5 - "suplement Omega Complex"	<0,06
6	Pasza D6 - "pokarm owocowy dla chomika i królika"	<0,06
7	Pasza D7 - "pokarm dla szynszyli"	<0,06
8	Pasza D8 - "pokarm dla królika"	<0,06
9	Pasza D9 - "mix egzotyczny dla gryzoni i królika"	<0,06
10	Pasza D10 - "karma dla kota"	<0,06

Tabela 2. Wyniki oznaczeń ^{90}Sr w paszach dla zwierząt gospodarskich.

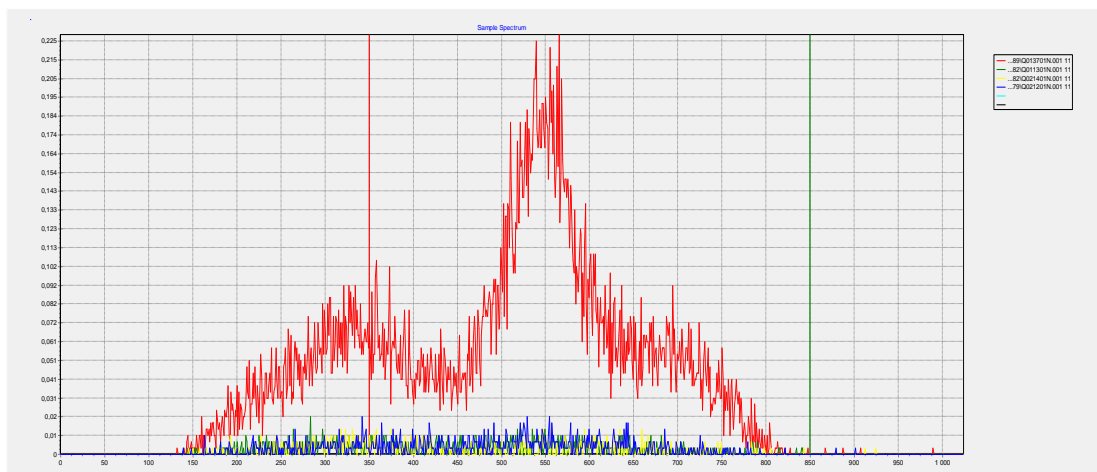
Nr	Pasze dla zwierząt gospodarskich	Stężenie ^{90}Sr [Bq/kg]
1	Pasza P1 - "słód jęczmień"	<0,06
2	Pasza P2 - "słód pszeniczny"	<0,06
3	Pasza P3 - "suszy z jabłek"	<0,06

4	Pasza P4 - "otręby pszenne"	<0,06
5	Pasza P5 - "serwatka w proszku"	<0,06
6	Pasza P6 - "kukurydza pasza"	<0,06
7	Pasza P7 - "MPP dla kur niosek" (1 powtórzenie)	3,43 ± 0,45
	Pasza P7 - "MPP dla kur niosek" (2 powtórzenie)	<0,06
8	Pasza P8 - "makuch lniany"	<0,06
9	Pasza P9 - "otręby jęczmienne"	<0,06
10	Pasza P10 - "żyto"	<0,06



Rycina 2. Przykładowe widma przebadanych próbek pasz.

W jednej próbce (Pasza P7) uzyskane stężenie wynosiło $3,43 \pm 0,45$ Bg/kg. Jednakże w próbce tej stwierdzono obecność interferentów (Ryc. 3), które miały duży wpływ na wynik badania. W stosowanej metodzie do wykrycia i identyfikacji zanieczyszczeń wykorzystuje się wstępną analizę spektrometryczną pozwalającą na stwierdzenie obecności interferentów emitujących promieniowanie γ , mających wpływ na prawidłowe oznaczenie ^{90}Sr (Ryc. 4).



Rycina 3. Widmo zanieczyszczonej próbki (kolor czerwony), oraz widma przedstawiające poziom wszystkich pozostałych próbek bez zanieczyszczenia (kolor niebieski).

Interference Corrected Activity Report 02.12.2021 09:00:02 Page 2

***** N U C L I D E I D E N T I F I C A T I O N R E P O R T *****

Sample Title: PASZA P7
Nuclide Library Used: C:\GENIE2K\CAMFILES\STDLIB.NLB

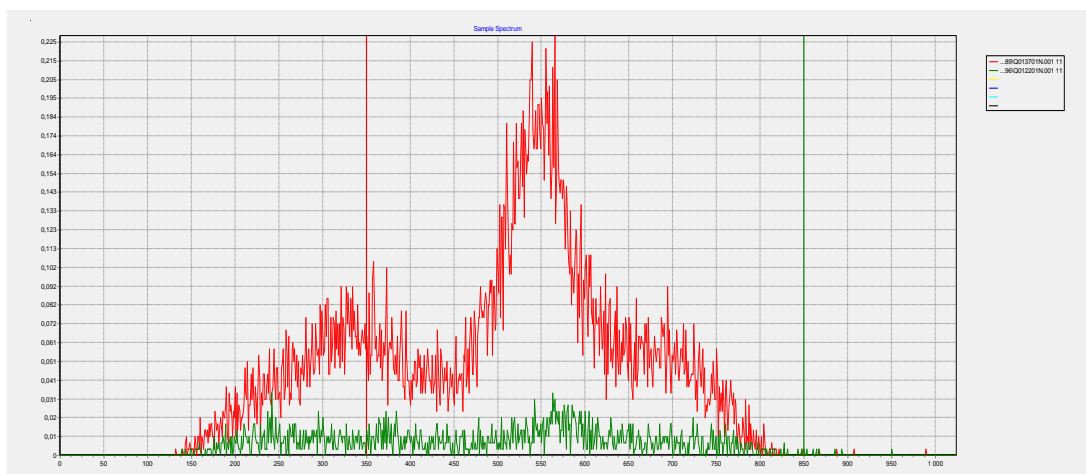
..... IDENTIFIED NUCLIDES

Nuclide Name	Id Confidence	Energy (keV)	Yield (%)	Activity (Bq /kg)	Activity Uncertainty
K-40	0.999	1460.81*	10.67	3.313542E+02	3.270986E+01
PB-212	0.757	74.81*	9.60	7.555475E+00	2.860781E+00
		77.11*	17.50	4.104336E+00	1.562253E+00
		87.20	6.30		
		89.80	1.75		
		115.19	0.60		
		238.63*	44.60	1.866856E+00	1.069252E+00
		300.09	3.41		
		609.31*	46.30	-2.009426E+02	2.670653E+01
		768.36	5.04		
		806.17	1.23		
BI-214	0.537	934.06	3.21		
		1120.29*	15.10	7.208628E+00	5.521913E+00
		1155.19	1.69		
		1238.11	5.94		
		1280.96	1.47		
		1377.67	4.11		
		1385.31	0.78		
		1401.50	1.39		
		1407.98	2.48		
		1509.19	2.19		
		1661.28	1.15		
		1729.60	3.05		
		1764.49*	15.80	8.432841E+00	3.855069E+00
		1847.44	2.12		
		2118.54	1.21		
PB-214	0.389	74.81*	6.33	1.145854E+01	4.338625E+00
		77.11*	10.70	6.712699E+00	2.555087E+00
		87.20	3.70		
		89.80	1.03		
		241.98	7.49		
		295.21	19.20		
		351.92*	37.20	-1.737227E+02	2.867195E+01
RA-226	0.986	785.91	1.10		
		186.21*	3.28	6.472935E+01	1.858929E+01
U-235	0.444	89.96	1.50		
		93.35	2.50		
		105.00	1.00		
		109.14	1.50		
		143.76	10.50		
		163.35	4.70		

Rycina 4. Fragment raportu z identyfikacji zanieczyszczeń z analizy spektrometrycznej wykonanej procedurą POR/PB-04.

W celu potwierdzenia skuteczności metody przebadano zanieczyszczoną próbkę paszy w dwóch powtórzeniach. W pierwszym powtórzeniu wykonano analizę bez zastosowania dodatkowego oczyszczania, a w drugim powtórzeniu z zastosowaniem etapu oczyszczania. W stosowanej metodzie badawczej w celu usunięcia interferentów, którymi są: ^{214}Bi , ^{212}Pb , ^{214}Pb , ^{226}Ra , ^{235}U zastosowano specjalny jonit Dowex 1x8. Dodatkowym

etapem oczyszczania było usunięcie ołowiu obecnego w próbce. Na podstawie uzyskanych widm z pierwszego i drugiego powtórzenia (Ryc. 5) wyraźnie widać skuteczność metody, która pozwala na usunięcie mogących pojawić się w próbce interferentów, które zaburzają wynik badania.



Rycina 5. Widmo zanieczyszczonej próbki bez usunięcia interferentów (kolor czerwony), oraz widmo zanieczyszczonej próbki po usunięciu interferentów (kolor zielony).

Dyskusja

Po przebadaniu próbek pasz w tak szerokim zakresie ich zastosowania, można uznać że produkty te są bezpieczne dla zwierząt. W przebadanych próbkach pasz, skażenia ^{90}Sr nie wystąpiły, co czyni je również bezpiecznymi dla człowieka ze względu włączania produktów odzwierzęcych do łańcucha żywnościowego. W wyniku możliwości występowania zanieczyszczeń w próbkach pasz, matryca ta niekiedy stanowi poważne wyzwanie w analizie oznaczania stężenia ^{90}Sr . Odpowiednie metody oczyszczania próbek, pozwalają jednak skutecznie eliminować problem interferentów, który przekłada się na uzyskaniu fałszywie dodatniego wyniku pomiaru stężenia ^{90}Sr .

Wnioski

- ✓ Od katastrofy w Czarnobylu upłynęło 38 lat, lecz w niektórych rejonach kraju wciąż można obserwować skutki skażenia środowiska izotopami promieniotwórczymi, w tym strontem-90.
- ✓ Pomimo to na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że pasze z przeznaczeniem dla skarmiania zwierząt są bezpieczne w aspekcie ochrony radiologicznej (skażenie ^{90}Sr).
- ✓ Metoda badawcza, wzbogacona o dodatkowy etap doczyszczania próbek z niepożądanych interferentów, opracowana i stosowana w Zakładzie Radiobiologii PIWet-PIB jest skutecznym narzędziem do wiarygodnego oznaczania strontu-90 w matrycach paszowych.

JAK SEKWENCJONOWANIE GENOMOWE (WGS) MIKROORGANIZMÓW MOŻE WPŁYNAĆ NA POPRAWĘ BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOSCI I PASZ?

Ewelina Kamińska, Ewelina Iwan, Małgorzata Olejnik

Zakład Analiz Omicznych

Wstęp

W ostatnich dwudziestu latach rozwój i otworzenie globalnych rynków oraz inwestycje infrastrukturalne wpłynęły na intensyfikację i wzrost znaczenia polskiej produkcji rolnej. Polska stała się m.in. liderem chowu drobiu na skalę europejską - 21% produkcji unijnej w 2023 roku. Jest ważnym eksporterem mięsa i produktów pochodzenia zwierzęcego - pozycja 7. eksportera w branży na świecie, z udziałem na poziomie 5,6% w roku 2023. Rosnąca świadomość konsumentów oraz duża konkurencja wymuszają ciągłe podnoszenie standardów żywności produkowanej w naszym kraju. Warto również podkreślić, że zdrowie i dobrostan zwierząt oraz bezpieczeństwo żywności i pasz to kluczowe obszary bezpośrednio wpływające na sektor zdrowia publicznego. Należy tu zwrócić uwagę na patogeny odzwierzęce, w szczególności na te przenoszone drogą pokarmową. W tym obszarze istnieje wiele wyzwań między innymi w kontekście dochodzeń epidemiologicznych dotyczących ognisk chorób, m.in. wskazanie źródła choroby, wyizolowanie i/lub zidentyfikowanie czynnika etiologicznego (np. bakterii, wirusa), czy decyzja o wycofaniu partii produktu będącego potwierdzonym źródłem zakażenia.

Rozwój nowoczesnych technologii, m.in. sekwencjonowania wysokoprzepustowego (HTS - High Throughput Sequencing), ma ogromny wpływ na poprawę bezpieczeństwa produkcji żywności. Zastosowanie HTS,

w tym sekwencjonowania pełnych genomów (WGS - Whole Genome Sequencing) przyczynia się do wzrostu bezpieczeństwa żywności, a tym samym do ochrony zdrowia publicznego i redukcji kosztów ekonomicznych związanych z szybką identyfikacją i eliminacją pierwotnych ognisk zakażeń. Coraz więcej krajów wspólnoty, w tym Polska, wprowadza technologię HTS w obszarze kontroli bezpieczeństwa mikrobiologicznego łańcucha produkcji żywności oraz w dochodzeniach epidemiologicznych.

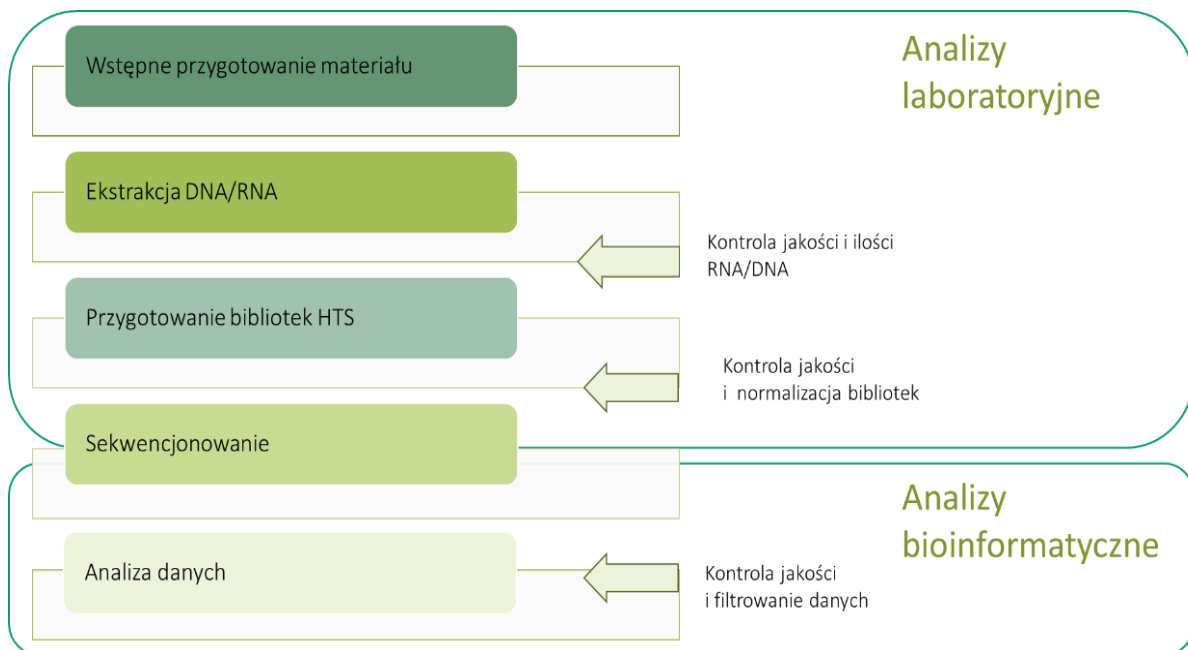
Sekwencjonowanie pełnych genomów (WGS) a metody tradycyjne

Istota sekwencjonowania wysokoprzepustowego polega na odczycie informacji zapisanej w materiale genetycznym na masową skalę i przekonwertowaniu jej na zapis cyfrowy, który następnie jest archiwizowany. Sekwencjonowanie pełnych genomów WGS organizmów, polega na wielokrotnym odczycie i zapisie pełnej sekwencji kodującej informację genetyczną danego organizmu, np. DNA izolatu bakteryjnego. Tradycyjne metody molekularne, tj. reakcja łańcuchowa polimerazy - PCR (Polymerase Chain Reaction), elektroforeza pulsacyjna - PFGE (Pulsed-Field Gel Electrophoresis), czy fenotypowe np. oznaczanie minimalnego stężenia hamującego - MIC (Minimal Inhibitory Concentration) metodą mikrorozcieńczeń, nadal odgrywają istotną rolę w diagnostyce mikrobiologicznej i typowaniu bakterii. Jednak niezaprzeczalnie WGS jest coraz częściej stosowany i wypiera stopniowo tradycyjne metody molekularne dzięki temu, że daje możliwość wykonywania wielokrotnych, wtórnych analiz w różnych kierunkach na bazie raz uzyskanej sekwencji, bez dodatkowych kosztów i z większą niż do tej pory siłą dyskryminacyjną. Dla porównania,

pojedyncza reakcja PCR generuje tylko jeden wynik opisujący próbkę badaną (np. genom bakterii), pod kątem obecności lub braku danej cechy genetycznej.

Przebieg badania oraz wady i zalety HTS

Mimo dostępności szeregu różnych platform do sekwencjonowania HTS, m.in. Illumina, Ion Torrent, PacBio, Oxford Nanopore Technology, różniących się metodą detekcji, czy długością odczytywanych sekwencji, przebieg samego badania wygląda podobnie. Składa się on z części wykonywanej w laboratorium i bioinformatycznej analizy danych. Na część laboratoryjną składają się trzy główne etapy: ekstrakcja materiału genetycznego, przygotowanie bibliotek, czyli odpowiednie opracowanie i wyznaczenie materiału oraz właściwe sekwencjonowanie (Ryc. 1). Jakość wykonania każdego z etapów badania bezpośrednio przekłada się na jakość finalnej sekwencji, dlatego po każdym z nich wykonywana jest kontrola jakości.



Rycina 1. Schemat badania HTS.

W konsekwencji coraz powszechniejszego stosowania technologii WGS w 2022 roku wydana została norma „ISO 23418:2022 *Microbiology of the food chain - Whole genome sequencing for typing and genomic characterization of bacteria - General requirements and guidance*”. Dokument opisuje ogólne wytyczne dotyczące sekwencjonowania genomowego bakterii izolowanych z żywności, pasz dla zwierząt, pierwotnego łańcucha produkcji oraz środowiska produkcji. Norma stanowi ważny element w aktualnie zachodzącym procesie standaryzacji procedur WGS w laboratoriach genomicznych w Europie i na świecie.

Sam proces przygotowania bibliotek i sekwencjonowania może trwać do kilku dni, w zależności od wybranej platformy i podejścia, co sprawia że czas wykonania pełnego badania może trwać do 2-3 tygodni. Jednak wraz z postępem technologii, automatyzacją i udoskonalaniem protokołów badawczych ulega on systematycznemu skróceniu. O ile czas tego typu analizy jest względnie długi, szczególnie w porównaniu do tradycyjnych metod biologii

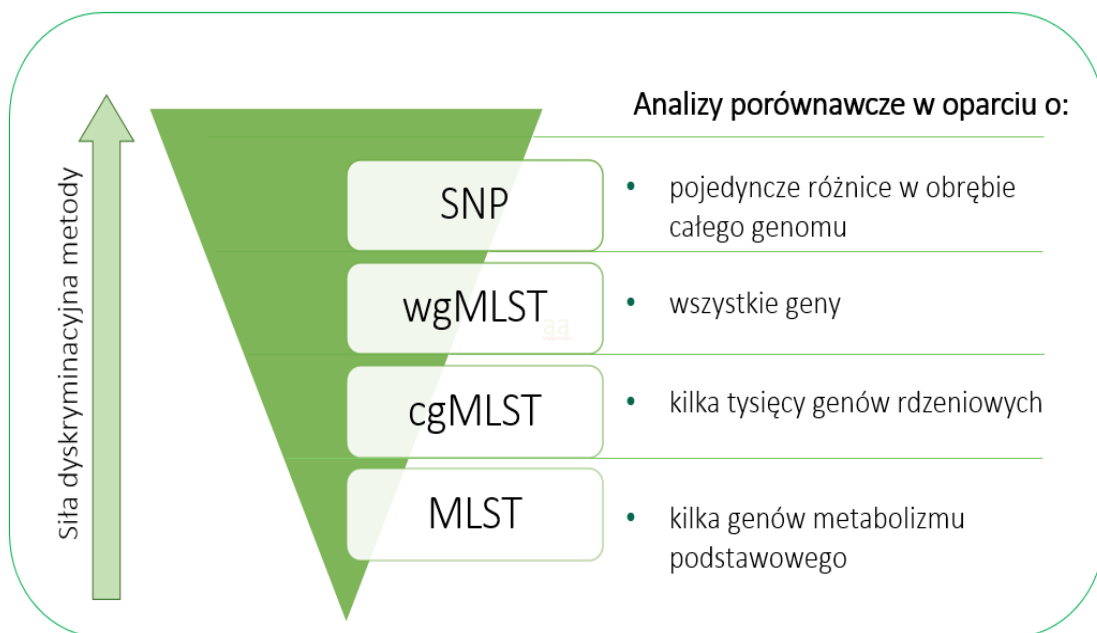
molekularnej, to ilość uzyskanych informacji jest nieporównywalnie większa. Warto jednocześnie podkreślić, że wykonanie badania metodą HTS wymaga współdziałania ekspertów z wielu dziedzin (m.in. analitycy i bioinformatycy), dysponujących specjalistyczną wiedzą i doświadczeniem. Szczególnie dużym wyzwaniem jest proces analizy bioinformatycznej ze względu na złożoność procesu analizy danych, mnogość narzędzi i brak szczegółowych wytycznych opracowanych przez jednostki nadzorujące. Należy tu zaznaczyć rolę Europejskich Laboratoriów Referencyjnych (m.in. ds. antybiotykooporności oraz takich patogenów jak *Salmonella*, *Campylobacter*, czy *Listeria*), które odpowiadają za organizację badań biegłości (PT - Proficiency Test). Udział w PT pracowników odpowiedzialnych za wykonywanie badań WGS w PIWet-PIB pozwala na utrzymanie i rozszerzanie kompetencji w zakresie tej metody.

Zaawansowanie technologiczne HTS wymaga pracy na specjalistycznym sprzęcie - sekwencjatorach, których jednorazowy koszt zakupu może wynosić od jednego do kilkunastu milionów złotych, w zależności od przepustowości. Ponadto konieczna jest dedykowana infrastruktura laboratoryjna i informatyczna, oraz dedykowane odczynniki spełniające określone parametry jakościowe. Wszystko to sprawia, że koszty badania WGS mogą być znaczące i kilkakrotnie przekraczać koszt standardowej analizy PCR. Warto jednocześnie zaznaczyć, że koszty sekwencjonowania systematycznie spadają, co sprawia, że badania WGS stają się konkurencyjną alternatywą dla metod molekularnych, szczególnie w przypadku wielokierunkowych analiz izolatów bakteryjnych.

Główne kierunki badawcze

Na podstawie cyfrowego zapisu genomu mikroorganizmu możliwe jest zidentyfikowanie wszystkich znanych determinant genetycznych m.in.

oporności czy wirulencji. Pozwala to na predykcję cech fenotypowych mikroorganizmu, np. określenie potencjału patogennego, czy profilu oporności, czyli środków przeciwdrobnoustrojowych czy dezynfektantów, na które dany patogen może być odporny. Również w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym (PIWet-PIB), tradycyjne metody diagnostyczne są wspomagane lub zastępowane przez WGS.



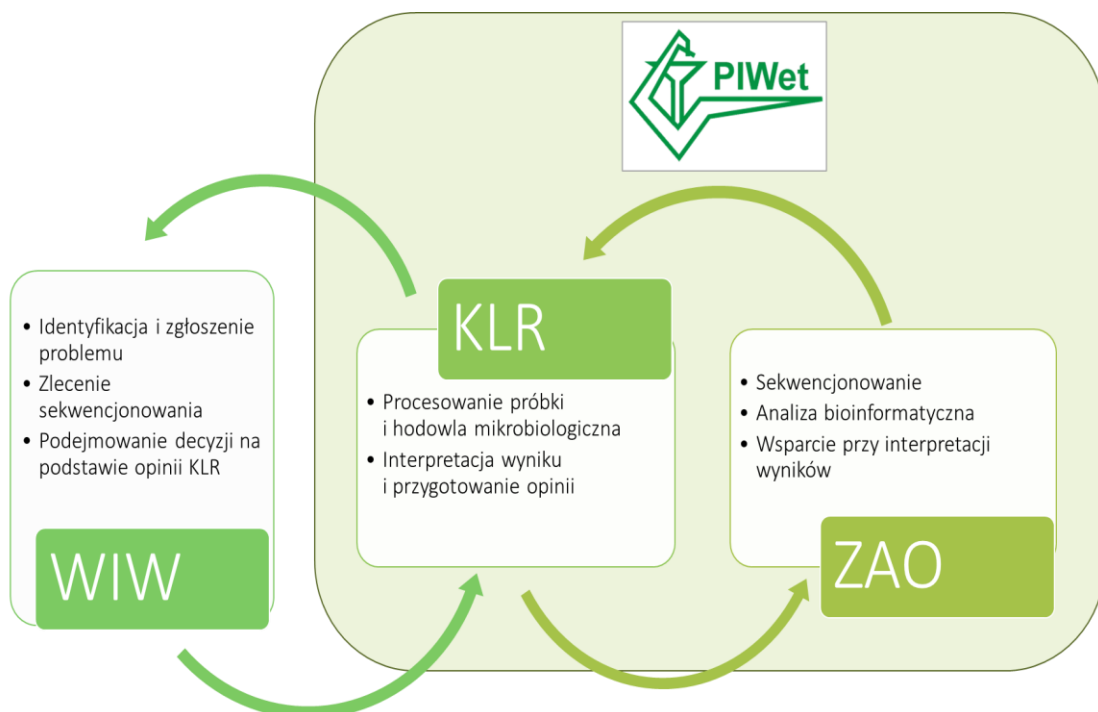
Rycina 2. Metody porównawcze oparte o WGS.

Metody porównawcze oparte o WGS pozwalają na typowanie i określenie stopnia pokrewieństwa genetycznego analizowanych szczepów bakterii (w obrębie jednego gatunku). Należy tu wyodrębnić: określanie typu sekwencyjnego (ST - Sequence Type) z wykorzystaniem metody MLST (Multilocus Sequence Typing), analizę genów rdzenia (cgMLST - core genome MLST) oraz metody oparte o pełen genom: wgMLST (whole genome MLST), czy analizy polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNP - Single Nucleotide Polymorphism). Ze względu na dużo większą siłę dyskryminacyjną metody te

stały się doskonałą alternatywą dla tradycyjnych technik np. PFGE stosowanych w dochodzeniach epidemiologicznych. Nie zmienia to jednak faktu, że metody hodowli i analizy fenotypowe pozostają podstawą dla kompleksowej charakterystyki izolatu, a metoda WGS stanowi ich idealne uzupełnienie.

WGS w PIWet-PIB

Utrzymanie wysokiej jakości badań w zakresie ochrony zdrowia i dobrostanu zwierząt hodowlanych oraz bezpieczeństwa żywności jest misją PIWet-PIB w Puławach. Za realizację tej misji i współpracę z Inspektoratami Weterynarii odpowiedzialne są zakłady naukowe i laboratoria referencyjne dysponujące dedykowanymi metodami, w tym sekwencjonowania WGS (Ryc. 3).



Rycina 3. Schemat wykonania dochodzenia epidemiologicznego w oparciu o WGS z uwzględnieniem zaangażowanych podmiotów.

W PIWet-PIB wykonywane są badania polegające m.in. na sekwencjonowaniu pełnego genomu mikroorganizmów bakteryjnych - *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp. oraz wirusów: grypy ptaków, wścieklizny, SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) izolowany od nerek, czy enzootycznej białaczki bydła. Sekwencjonowanie WGS ma szerokie zastosowanie w PIWet-PIB w wielu obszarach, ale w szczególności należy wymienić:

- Bezpieczeństwo żywności, m.in. przypadki wykrycia patogenów takich jak *Salmonella*, *Listeria*, w dochodzeniach epidemiologicznych w ramach Systemu Wczesnego Ostrzegania o Niebezpiecznej Żywności i Paszach - RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed), a także w dochodzeniach na poziomie krajowym. W tym celu wykonywane są analizy porównawcze, tj. SNP oraz cgMLST, celem potwierdzenia możliwego związku danego patogenu z ogniskiem choroby u ludzi, zwierząt czy kontaminacją żywności.
- Zwalczanie chorób zwierząt - poprzez poprawę dotychczasowych metod diagnostyki. WGS ma zastosowanie w obszarze programów zwalczania *Salmonella* - również jako element w dochodzeniach nad ogniskami epidemiologicznymi/epizootycznymi, czy wirusa wścieklizny, grypy ptaków (AIV - Avian Influenza Virus), oraz ognisk SARS-CoV-2 na fermach nerek.
- Higiena pasz związana z wykrywaniem i identyfikowaniem zanieczyszczeń mikrobiologicznych oraz powiązanych z nimi ognisk epidemiologicznych/ epizootycznych.
- Monitoring oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe wśród występujących u zwierząt i w żywności pochodzenia zwierzęcego

bakterii zoonotycznych i komensalnych zgodnie z decyzją wykonawczą Komisji (UE) 2020/1729.

- Charakterystyka genomowa patogenu - jako metoda wspomagająca w celu określenia genetycznego profilu oporności, wirulencji, a w przypadku szczepów problematycznych i o nietypowych właściwościach biochemicznych: określenie rodzaju/gatunku, serotypu i innych cech pomagających w identyfikacji mikroorganizmu.
- Badania naukowe - prowadzonych jest wiele projektów naukowych z wykorzystaniem pełnego wachlarza metod HTS, które mają na celu poprawę zdrowia i dobrostanu zwierząt hodowlanych, a także jakości pasz i dodatków paszowych. Wdrażanie wyników takich badań pozwala na poprawę jakości i bezpieczeństwa hodowli, produkcji i przetwórstwa rolnego.

Dokumenty rekomendujące wykorzystanie WGS w łańcuchu produkcji żywności

Wykorzystanie WGS w łańcuchu produkcji żywności deklaruje i rekomenduje szereg instytucji polskich i zagranicznych zajmujących się zdrowiem ludzi i zwierząt, a także nadzorem epidemiologicznym - Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności - EFSA (European Food Safety Authority), Europejskie Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób - ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), Komisja Europejska, Główny Lekarz Weterynarii. W ciągu dwóch lat od opracowania i wprowadzenia metody wysokoprzepustowego sekwencjonowania (2014), komisja UE wprowadziła pierwsze rozporządzenia mające na celu dopuszczenie i regulacje stosowania WGS w bezpieczeństwie żywności i pasz (2016). Obecnie widać przejście z możliwości stosowania sekwencjonowania jako metody alternatywnej i/lub wspomagającej dla tradycyjnych metod (np. od 2021 roku

możliwe jest oznaczanie oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe dla izolatów *Salmonella* opornych na cefotaksym lub ceftazydym lub meropenem metodą WGS zamiast metody mikrorozcieńczeń), do obowiązkowego stosowania sekwencjonowania (np. w dochodzeniach epidemiologicznych). W 2021 roku zostały opracowane i rekomendowane przez Głównego Lekarza Weterynarii krajowe wytyczne do stosowania WGS w przypadkach dochodzeń epidemiologicznych i charakterystyki genomowej patogenów.

Poniżej dokonano przeglądu i zestawienia najistotniejszych dokumentów krajowych i zagranicznych rekomendujących wykorzystanie metodyki HTS, a w szczególności WGS w obszarze produkcji żywności i pasz - Tabela 1.

Tabela 1. Wybrane wytyczne regulujące stosowanie HTS w Polsce i Unii Europejskiej (UE).

Rok	Tytuł	Rodzaj	Skrócony opis
2016	„Expert opinion on whole genome sequencing for public health surveillance”	Unia Europejska	Strategia wykorzystania WGS w celu wsparcia dochodzeń epidemiologicznych i nadzoru nad zdrowiem publicznym w UE. W rezultacie w ciągu pięciu lat ECDC miało przyczynić się do ustanowienia norm i systemów umożliwiających stosowanie WGS w całej UE jako metody z wyboru do typowania drobnoustrojów patogennych, zastępując inne metody.
2019	„ECDC strategic framework for the integration of molecular and genomic typing into European surveillance and multi-country outbreak investigations 2019-2021”	Unia Europejska	W dokumencie przedstawiono proponowaną listę priorytetowych patogenów/chorób i nakreślono techniczne możliwości wdrożenia (2019-2021) danych o typowaniu molekularnym/genomicznym do nadzoru na poziomie UE i międzynarodowych dochodzeń epidemiologicznych.
2019	„Decyzja wykonawcza Komisji (UE) 2019/300 z dnia 19 lutego 2019 r. ustanawiająca plan ogólny zarządzania kryzysami w obszarze	Unia Europejska	Komisja promuje stosowanie, na poziomie UE, najnowocześniejszych narzędzi do śledzenia, typowania molekularnego (w tym WGS) oraz udostępnianie w bazie danych EFSA-ECDC wyników dotyczących typowania molekularnego patogenów wykrytych u ludzi i zwierząt oraz w żywności, paszach i środowisku ich produkcji.

	bezpieczeństwa żywności i pasz”		
2020	„Decyzja wykonawcza Komisji (UE) 2020/1729 z dnia 17 listopada 2020 r.”	Unia Europejska	Dokument dopuszcza stosowanie WGS, jako metody alternatywnej dla technik fenotypowych, w monitorowaniu oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe u bakterii zoonotycznych i komensalnych. Jednocześnie nakłada obowiązek wprowadzenia warunków technicznych w celu zapewnienia porównywalności danych.
2021	„Wytyczne Głównego Lekarza Weterynarii dotyczące wykorzystania sekwencjonowania wysokoprzepustowego (HTS) przez Inspekcję Weterynaryjną”	Polska	Dokument opracowany we współpracy z Państwowym Instytutem Weterynaryjnym. Wytyczne przedstawiają schemat badania HTS, wskazują na miejsce jego wykonywania (PIWet-PIB) oraz pozostałe informacje na temat roli poszczególnych podmiotów uczestniczących w badaniu HTS, priorytetowe obszary zastosowania HTS oraz sposób ich zlecenia.
2022	„EFSA and ECDC One Health WGS system”	Unia Europejska	Oficjalny system do międzyobszarowego dzielenia się danymi przez instytucje zdrowia publicznego, bezpieczeństwa żywności i weterynarii.
2022	„EFSA and ECDC collaboration agreement”	Unia Europejska	Dokument określający warunki współpracy i udostępniania danych i interakcji EFSA-ECDC. Dane dotyczą izolatów, pochodzących od ludzi i zwierząt, z żywności oraz paszy i powiązanego środowiska, i są gromadzone dla celów zdrowia publicznego.
2022	„Guidelines for reporting Whole Genome Sequencing-based typing data through the EFSA One Health WGS System”	Unia Europejska	Wytyczne opisują system „EFSA One Health WGS system”, w tym jego architekturę, użytkowników i zakres ich dostępów do danych, a także ich własność.

Podsumowanie

Dla utrzymania silnej pozycji na światowym rynku produkcji żywności i pasz niezbędne są inwestycje w rozwój i wdrażanie nowych technologii zapewniających szybki dostęp do kompleksowych zasobów informacji. Dotyczy to zarówno systemów szybkiego reagowania i dzielenia się krytycznymi danymi, jak i nowych technologii kontroli produkcji w rolnictwie, jaką bez wątpienia jest WGS. Ta kompleksowa i uniwersalna metoda może być

wykorzystywana do charakterystyki genomu mikroorganizmów w badaniach urzędowych oraz naukowych. Pozwala na ocenę efektywności stosowania krajowych i międzynarodowych programów zwalczania patogenów czy oporności. Sekwencjonowanie jest coraz powszechniej uznawanym i wykorzystywanym narzędziem w kontekście nadzoru epidemiologicznego i holistycznego podejścia „One Health”. Wspomniane wyżej zastosowania metody, czynią HTS ważnym elementem w nadzorze nad bezpieczeństwem żywności i pasz, a dalsze rozpowszechnianie tej technologii w instytucjach nadzoru zdrowia ludzi i zwierząt wydaje się nieuniknione.

SEKCJA BYDŁO

STRATEGIA ZWALCZANIA PRYSZCZYCY W EUROPIE

Wiesław Niedbalski, Andrzej Fitzner, Andrzej Kęsy

Zakład Pryszczycy

Krótką charakterystyka

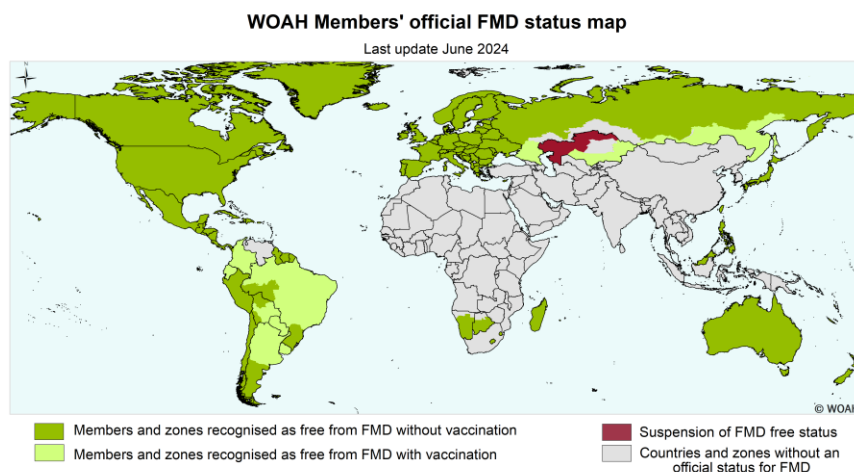
Pryszczycyca (łac. *Aphthae epizooticae*, ang. Foot and Mouth Disease - FMD) to choroba zakaźna, wybitnie zaraźliwa, zwierząt parzystokopytnych domowych i dzikich. Czynnikiem etiologicznym jest wirus pryszczycy (FMDV), rodzina *Picornaviridae*, rodzaj *Aphthovirus*. FMDV charakteryzuje duża zmienność genetyczna i antygenowa; znanych jest 7 serotypów oznaczonych A, O, C, Asia 1 oraz SAT 1, SAT 2, SAT 3, a w obrębie każdego z serotypów występuje wiele podtypów i wariantów antygenowych. Duża różnorodność genetyczna wirusa pryszczycy jest spowodowana wysokim stopniem mutacji zachodzących podczas replikacji jego materiału genetycznego, co w znacznym stopniu utrudnia diagnostykę pryszczycy oraz jej skuteczną profilaktykę. Na zakażenie wrażliwe są: bydło, świnie, owce, kozy, bawoły, renifery, wielbłądy, dziki oraz przeżuwacze wolno żyjące - ogółem ponad 70 gatunków zwierząt. Objawy kliniczne pryszczycy oraz ich nasilenie mogą różnić się w zależności od gatunku zwierzęcia. W przypadku bydła typowe zmiany kliniczne obserwuje się zarówno w jamie gębowej, jak i na racicach, podczas gdy u świń widoczne są przede wszystkim na racicach. U owiec, objawy pryszczycy nie występują lub są słabo wyrażone; około 25% zakażonych owiec nie wykazuje żadnych objawów choroby, a u kolejnych 25% występują jedynie niewielkie, pojedyncze zmiany na racicach.

Akty prawne

Pryszczycza znajduje się, według polskiego prawa weterynaryjnego, na liście chorób podlegających obowiązkowi rejestracji i zwalczania z urzędu. Podstawowym aktem normatywnym regulującym zwalczanie chorób zakaźnych zwierząt w krajach członkowskich Unii Europejskiej (UE) jest Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady 2016/492 z dnia 9 marca 2016 r. w sprawie przenośnych chorób zwierząt oraz zmieniające i uchylające niektóre akty prawne w dziedzinie zdrowia zwierząt (Animal Health Law - Prawo o zdrowiu zwierząt). Rozporządzenie to weszło w życie w dniu 21 kwietnia 2016 r. i obecnie obowiązuje na terenie krajów-członków UE. Jednocześnie moc straciło 38 aktów prawnych, w tym dyrektywy oraz niektóre decyzje i rozporządzenia regulujące zwalczanie chorób zakaźnych zwierząt w UE. Zasadniczym krajowym aktem prawnym dotyczącym zwalczania pryszczycy jest rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 10 lutego 2006 r. w sprawie szczegółowego sposobu i trybu zwalczania pryszczycy (Dz. U.2006, Nr 28, poz. 205), zastępujące rozporządzenie z dnia 2 sierpnia 2004 r. (Dz.U. Nr 180, poz. 1864). Ponadto, sposób i tryb postępowania przy pryszczycy zawierają inne przepisy normatywne krajowe, takie jak: ustawa z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (Dz.U. Nr 69, poz. 625.) oraz rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi, z dnia 17 grudnia 2004 r. w sprawie określenia jednostek chorobowych, sposobu prowadzenia kontroli oraz zakresu badań kontrolnych zakażeń zwierząt (Dz.U. Nr 282, poz. 2813).

Epidemiologia

Pryszczycyca od lat stanowi poważne zagrożenie dla hodowli zwierząt w wielu regionach świata. Straty ekonomiczne spowodowane chorobą są bezpośrednio związane ze zmniejszeniem efektywności hodowli oraz pośrednio, z utratą rynków zbytu, z powodu embarga na handel zwierzętami i produktami zwierzęcego pochodzenia. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (World Organization for Animal Health - WOAH) choroba występuje obecnie na terytorium ponad 100 państw kontynentu azjatyckiego i afrykańskiego (Ryc. 1).



Rycina 1. Sytuacja epizootyczna pryszczycy na świecie, stan na czerwiec 2024 r. (Legenda: kraje członkowskie i strefy wolne od pryszczycy bez szczepień (zielony), kraje członkowskie i strefy wolne od choroby ze szczepieniami (jasnozielony), obszary, na których zawieszono status „wolny od pryszczycy” (bordowy), kraje i strefy bez oficjalnego statusu w zakresie pryszczycy (szary).

Sytuacja epidemiologiczna w Europie

W Europie, ostatnią dużą epidemię pryszczycy potwierdzono w lutym 2001 r. w Wielkiej Brytanii, gdzie ogółem wykryto 1199 ognisk choroby w różnych regionach kraju. Następnie choroba pojawiła się w sąsiednich

krajach i jej ogniska wykryto w Irlandii Płn., Republice Irlandii, Francji i Holandii. Kolejna, mniejsza epidemia pryszczycy w Europie, miała miejsce również w Wielkiej Brytanii w 2007 r., a ostatnie przypadki tej choroby na naszym kontynencie stwierdzono na przełomie 2010 i 2011 r. w Bułgarii, w obwodzie Burgas, nad Morzem Czarnym. W Polsce, w latach 1950-1971 wykryto ogółem 128 570 przypadków choroby, przy czym największe jej nasilenie notowano w latach 1952-1955 i 1960-1964, a rekordową liczbę - ponad 93 000 stwierdzono w 1952 roku. Dane szacunkowe wskazują, że w tym okresie chorowało ponad 700 000 zwierząt, głównie bydło i świnie. Ostatni przypadek choroby w Polsce stwierdzono w 1971 roku i od tego czasu Polska posiada status kraju wolnego od pryszczycy.

Objawy kliniczne

Czas inkubacji pryszczycy różni się w zależności od wielkości dawki infekcyjnej, sposobu transmisji oraz gatunku zakażonego zwierzęcia, i wynosi od 1 do 14 dni, najczęściej 2 do 8 dni. Typowymi objawami klinicznymi pryszczycy są: obfite ślinienie, podwyższona temperatura o 1,5 do 2,5°C, pęcherze na błonie śluzowej języka i jamy gębowej, w szparach międzypaliczkowych oraz na koronkach racic, a także na strzykach i wymieniu (Ryc. 2, 3).



Rycina 2. Pęcherze na błonie śluzowej języka u bydła.



Rycina 3. Zmiany na racicach u świń.

Niektóre zwierzęta nie wykazują żadnych objawów klinicznych zakażenia i choroba występuje u nich w formie bezobjawowej, u innych dochodzi do zakażenia przetrwałego (persystentnego) i osobniki te mogą stać się nosicielami wirusa. Zdolność wirusa do zakażenia międzygatunkowego zwiększa prawdopodobieństwo jego rozprzestrzeniania się, w szczególności w populacjach o dużym zagęszczeniu.

Drogi zakażenia

Do zakażenia bydła i owiec dochodzi najczęściej przez układ oddechowy (droga kropelkowa), natomiast świnie zakażają się głównie drogą pokarmową lub przez uszkodzoną skórę. Wirus może szerzyć się zarówno drogą aerogenną w formie aerozolu, jak i wraz z odchodami oraz płynami ustrojowymi. Choroba może rozprzestrzeniać się również za pośrednictwem zakażonej karmy, wody, środków transportu oraz produktów pochodzących od zakażonych zwierząt. W zwłokach zakażonych zwierząt wirus pryszczycy może przetrwać w formie zakażnej w tkance mięśniowej przez 11 dni, a w wątrobie nawet do 4 miesięcy.

Próbki do badań

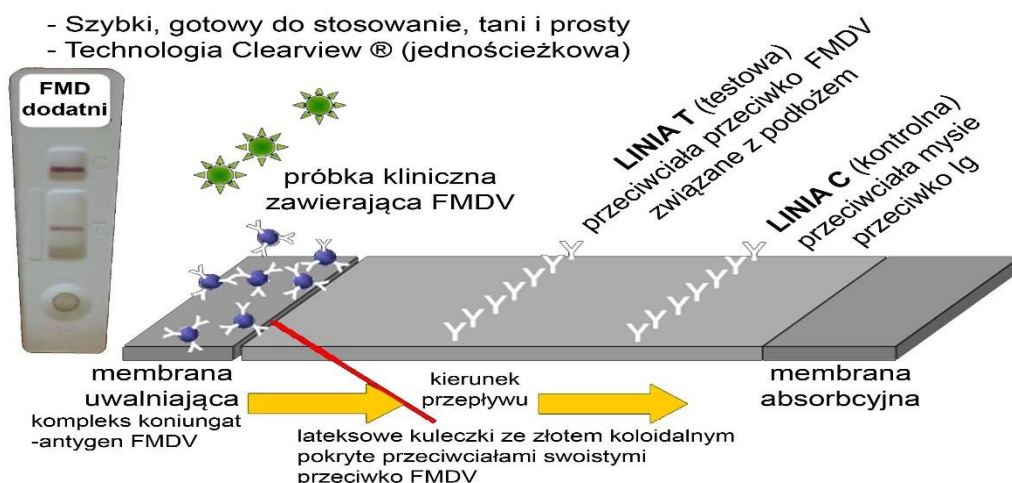
Powszechnie stosowany w diagnostyce laboratoryjnej materiał biologiczny to: nabłonek z niepękniętych lub świeżo pękniętych pęcherzy, płynna zawartość pęcherzy, krew pełna w okresie wirerii pobrana na antykoagulant (np. EDTA), śluz gardłowo-przełykowy, a także krew/surowica do badań serologicznych na obecność specyficznych przeciwciał przeciwko wirusowi pryszczycy. Odpowiednia temperatura transportu do laboratorium oraz jakość tych próbek ma decydujący wpływ na wiarygodną diagnostykę laboratoryjną.

Diagnostyka

Znanych jest wiele zakaźnych chorób pęcherzowych nieodróżnialnych klinicznie od pryszczycy, np. choroba pęcherzykowa świń, wysypka pęcherzykowa, pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej, księgosusz, pomór małych przeżuwaczy, wirus Seneca A. W przebiegu tych chorób występują identyczne lub podobne objawy kliniczne oraz zmiany sekcyjne. Dlatego niezbędna jest szybka i precyzyjna diagnostyka różnicowa, zarówno sekcyjna,

jak i laboratoryjna. Badanie kliniczne odgrywa ważną rolę, jest elementem wstępnej diagnozy, jednak ostateczne rozpoznanie odbywa się wyłącznie na podstawie badań laboratoryjnych.

Metody diagnostyczne stosowane w Zakładzie Pryszczycy PIWet-PIB są zgodne z podręcznikiem WOAH „Testy diagnostyczne i szczepionki dla zwierząt lądowych”. Do wykrywania wirusa/antygeny/materiału genetycznego wirusa stosuje się rutynowo: metodę izolacji wirusa w hodowli wrażliwych komórek, test ELISA oraz techniki detekcji wirusowego RNA: konwencjonalny RT-PCR oraz metodę ilościową w czasie rzeczywistym, real-time RT-PCR. W ostatnich latach, do diagnostyki pryszczycy wykorzystuje się coraz powszechniej nowoczesne techniki, które mogą być stosowane bezpośrednio w terenie, bez konieczności transportu próbek do laboratorium. Obecnie dostępny w handlu jest szybki i prosty do wykonania test paskowy, do wykrywania antygeny wirusa pryszczycy w materiale biologicznym „Lateral flow devices FMDV antigen detection (LFD)”, wprowadzony na rynek na początku XXI wieku przez szwedzką firmę Svanova.



Rycina 4. Test LFD do wykrywania antygeny wirusa pryszczycy.

Wykonanie badania zajmuje jedynie 10-30 min. i może być przeprowadzone przez osobę nieposiadającą doświadczenia w zakresie rutynowej diagnostyki laboratoryjnej. Czułość testu jest porównywalna do standardowej metody ELISA, stosowanej w laboratoriach badawczych. Do diagnostyki w ognisku choroby powszechnie wykorzystuje się także przenośne, automatyczne platformy (Enigma-FL, Bio-Seeq-Vet) przy użyciu których, możliwe jest wykonanie pełnej procedury wykrywania materiału genetycznego wirusa (ekstrakcja RNA, amplifikacja metodą PCR oraz analiza) i uzyskanie wyniku w ciągu 1 godziny. Ponadto, wstępną diagnostykę w terenie można przeprowadzić przy użyciu termografii w podczerwieni (IFT), na podstawie oceny ciepłoty ciała badanych zwierząt.

Profilaktyka

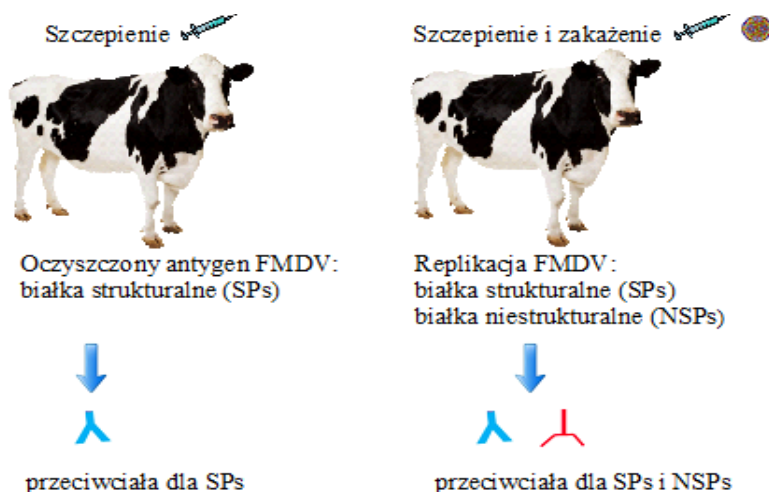
Złożoność pryszczycy, przede wszystkim mnogość i zmienność wirusa oraz wielość jego gospodarzy stanowią poważną barierę utrudniającą zwalczanie choroby. Profilaktyka pryszczycy opiera się przede wszystkim na stosowaniu szczepionek, głównie inaktywowanych, które wytwarza się z wirusa namnożonego w zawieszynie hodowli wrażliwych komórek, chemicznie inaktywowanego, oczyszczonego i związanego z określonym adiuwantem. Systematycznie badana jest skuteczność wytworzonej szczepionki w celu wyselekcjonowania wariantu antygenowego wirusa najbardziej zbliżonego genetycznie do izolowanego z ognisk choroby. Szczepionki mają ograniczony okres trwałości (1-2 lata) i muszą być systematycznie zastępowane nowymi, sprawdzonymi preparatami. Przechowywanie szczepionki w formie skoncentrowanego antygeny znacznie wydłuża jej trwałość lecz jednocześnie opóźnia możliwość zastosowania gotowej szczepionki w terenie, z powodu konieczności przeznaczenia kilku dni na jej wyprodukowanie z takiego

antygeny. Szczepionka powinna być stosowana z zachowaniem odpowiedniej procedury szczepień, z uwzględnieniem najkorzystniejszej drogi podania zwierzęciu oraz jej dawki, co ma istotny wpływ na skuteczność. WOAH zaleca stosowanie szczepionki interwencyjnej, w krajach wolnych od pryszczycy, w dawce 6 PD₅₀ (50% protective dose). Lekarz wykonujący szczepienie powinien posiadać odpowiednią wiedzę i doświadczenie w tym zakresie. Podczas szczepienia, może on nieświadomie, w sposób bierny (np. na ubraniu, obuwiu, itp.) przenieść wirusa od zwierząt chorych z jednego stadu na osobniki z innych stad. W ostatnich latach opracowano wiele technologii produkcji nowych szczepionek przeciwko pryszczycy, których parametry uodporniające są równe lub wyższe niż klasycznej szczepionki inaktywowanej. Należą do nich szczepionki podjednostkowe wyprodukowane w oparciu o białka strukturalne tworzące cząsteczki wirusopodobne (virus like particles - VLPs), szczepionki DNA oraz szczepionki rekombinowane i peptydowe. Należy dążyć do tego, aby technologie produkcji szczepionki przeciwko pryszczycy były bardziej wydajne i efektywne ekonomicznie. Dotychczas udało się to osiągnąć z zastosowaniem nowoczesnych metod podczas produkcji szczepionki VLPs w bakteryjnych systemach ekspresyjnych E. coli, z użyciem rekombinanta bakulowirusowego w komórkach owadzych oraz metodą ekspresji białek wirusowych w systemach pozakomórkowych (cell-free system).

Różnicowanie zwierząt zakażonych od szczepionych (DIVA)

Jedną z zasadniczych wad szczepionek inaktywowanych przeciwko pryszczycy jest brak możliwości serologicznego różnicowania zwierząt zakażonych od szczepionych (Differentiating Infected from Vaccinated Animals - DIVA). Problem ten może zostać rozwiązany po zastosowaniu technologii produkcji szczepionki z oczyszczonego antygeny wirusa pryszczycy, niemal

całkowicie pozbawionego białek niestrukturalnych, co stwarza możliwość takiego różnicowania (Ryc. 5).



Rycina 5. Różnicowanie zwierząt szczepionych, od szczepionych a następnie zakażonych wirusem pryszczycy (DIVA).

Po podaniu takich szczepionek, pozbawionych białek niestrukturalnych (non-structural proteins - NSPs), w organizmie zwierzęcia powstają wyłącznie przeciwciała przeciwko białkom strukturalnym (structural proteins - SPs) wirusa pryszczycy, co można wykazać w badaniu serologicznym z użyciem metod diagnostycznych do wykrywania przeciwciał NSPs, np. testem 3ABC-ELISA. Strategię DIVA przez wiele lat stosowano z powodzeniem na kontynencie południowoamerykańskim do monitorowania wyników zwalczania pryszczycy w krajach, w których choroba wystąpiła, a także w celu udokumentowania statusu - „kraj wolny od pryszczycy ze szczepieniami”, co umożliwiło uzyskanie zezwolenia na eksport wołowiny. W krajach tych intensywny wypas bydła prowadzi się na wielkich, otwartych przestrzeniach,

na których rozpoznanie kliniczne choroby nie zawsze jest możliwe, dlatego konieczna jest szybka i precyzyjna serologiczna diagnostyka laboratoryjna. Strategię DIVA wykorzystywano także podczas zwalczania choroby wśród świń szczepionych przeciwko pryszczycy na Dalekim Wschodzie. Ponadto, testy DIVA stosowano w ograniczonym zakresie w 1966 r. w Macedonii i Albanii po szczepieniach interwencyjnych podczas zwalczania pryszczycy. W krajach posiadających status „wolny od pryszczycy bez szczepień”, takich jak państwa członkowskie UE oraz w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej (USA), testy immunoenzymatyczne do wykrywania przeciwciał przeciwko NSPs wykorzystuje się jako narzędzie kontroli pryszczycy, między innymi podczas wdrażania polityki: „szczepienie w celu przeżycia” (ang. vaccinate-to-live). Zgodnie z tą koncepcją, kontrola pryszczycy w krajach dotychczas wolnych od pryszczycy może być realizowana poprzez zastosowanie szczepień interwencyjnych wokół zakażonych stad, a następnie badań laboratoryjnych przeglądowych w celu wykrycia i wyeliminowania osobników zakażonych, bez konieczności wybijania zwierząt szczepionych. Ponadto, strategia DIVA może być wykorzystywana do badania zwierząt, które są obiektem wymiany handlowej, ponieważ znaczny odsetek (do 50%) osobników zakażonych może stać się nosicielami wirusa, co oznacza, że w ich organizmie wirus pryszczycy może być obecny dłużej niż 28 dni od zakażenia. Nosiciele nie wykazują żadnych objawów klinicznych pryszczycy i mogą pozostać w tym stanie przez długi okres, np. w przypadku bydła przez 2-3 lata, a u bawołu afrykańskiego nawet 5 lat. Osobniki te stanowią potencjalne źródło zakażenia wirusem pryszczycy, co udowodniono w warunkach terenowych u bawołu afrykańskiego.

WOAH różnicuje kraje bądź regiony na wolne od pryszczycy bez szczepień, wolne od pryszczycy ze szczepieniami, z zawieszeniem statusu z/bez

szczepień oraz o statusie niezdefiniowanym (Ryc. 1). Jednakże, tylko kraje wolne od pryszczycy bez szczepień nie podlegają żadnym restrykcjom w handlu zwierzętami oraz produktami zwierzęcego pochodzenia. W przypadku krajów/regionów posiadających status wolny od pryszczycy ze szczepieniami, z powodu nie wdrożonej tam strategii DIVA i kwestionowania statusu zdrowotnego zwierząt szczepionych, restrykcje handlowe są w dalszym ciągu utrzymywane. W krajach dotychczas wolnych od pryszczycy, po potwierdzeniu ogniska choroby, ustanowiono trzy podstawowe kierunki działania, których celem jest zapobieżenie dalszemu szerzeniu się wirusa: 1) odizolowanie zwierząt zakażonych i podejrzanych o zakażenie oraz szczepienie interwencyjne bez ich wybijania, 2) odizolowanie, szczepienie i wybijanie lub 3) odizolowanie i wybijanie zwierząt. Stosując politykę odosobnienia zwierząt i szczepienia pobiera się próbki materiału biologicznego z ognisk choroby, analizuje w celu określenia serotypu i podtypu wirusa, a następnie porównuje z antygenami używanymi do produkcji szczepionki. Celem tych badań jest wyselekcjonowanie szczepionki zawierającej antygen o najwyższym pokrewieństwie antygenowym ze szczepem występującym w ognisku choroby. Z powodu obaw przed restrykcjami handlowymi, polityka szczepień interwencyjnych bez wybijania zwierząt w regionach uprzednio wolnych od pryszczycy była rzadko wykorzystywana i w większości krajów wybierano metodę odizolowania i wybijania zwierząt lub odizolowania, szczepienia i wybijania zaszczepionych zwierząt. W przypadku krajów dotychczas wolnych od choroby, polityka masowego wybijania zwierząt jest ekonomicznie korzystniejsza niż szczepienie i eliminacja szczepionych zwierząt, ponieważ zgodnie z przepisami WOA, szybciej odzyskuje się status kraju/regionu wolnego od pryszczycy. Jeśli choroba pojawi się niespodziewanie w regionach historycznie od niej wolnych, to natychmiast wdraża się politykę masowego

wybijania, co w efekcie prowadzi do nieuzasadnionej eliminacji osobników zdrowych. Podczas zwalczania epizootii pryszczycy w Wielkiej Brytanii w 2001 r., wybito ogółem ponad 4 mln zwierząt na ponad 10 000 farm, z czego w około 8 000 przebywały zwierzęta, które tylko potencjalnie mogły być zakażone. Utylizacja zwłok ubitych i padłych zwierząt poprzez ich zakopanie lub spalenie także stanowi skomplikowane przedsięwzięcie logistyczne. Wymagany jest dostęp do przystosowanych do tego celu zakładów utylizacyjnych i posiadanie odpowiedniego wyposażenia, a także wiedzy i doświadczenia personelu, który będzie zaangażowany w proces utylizacji. W przypadku braku odpowiednich warunków do bezpiecznej utylizacji dużej ilości zwłok zwierząt, częściej stosuje się politykę odizolowania zakażonych zwierząt, ich szczepienie, a następnie wybijanie. Taki sposób postępowania wdrożono podczas zwalczania epizootii pryszczycy w Holandii w 2001 r. Masowe wybijanie zwierząt bezpośrednio uderza w hodowców z powodu strat finansowych, które mogą być złagodzone dopiero po uzyskaniu rekompensat za poniesione szkody. Niekiedy może to przybrać nieoczekiwane skutki, np. podczas epizootii pryszczycy na Tajwanie w 1997 r., rząd zaoferował hodowcom wyższe stawki rekompensat niż ceny rynkowe zwierząt, co zachęcało hodowców do celowego zakażenia swoich zwierząt dla zwiększenia zysku.

Aspekt ekonomiczny

Wystąpienie pryszczycy przyczynia się do ogromnych strat finansowych w gospodarce kraju, w którym stwierdzono ogniska choroby. Są to straty bezpośrednio związane ze zwalczaniem choroby, takie jak: wybijanie zwierząt chorych i podejrzanych o zakażenie wirusem, czyszczenie i dezynfekcja, szczepienia interwencyjne, odszkodowania dla hodowców, okresowe ograniczenia produkcji w sektorze przetwórstwa żywności, w skrajnych

przypadkach zaprzestanie działalności zakładów przetwórczych. Koszty pośrednie, bardziej dotkliwe dla gospodarki kraju zapowietrzonego, wynikają z utraty zagranicznych rynków zbytu na zwierzęta i produkty zwierzęcego pochodzenia oraz ograniczeń w wymianie handlowej. Zadaniem służby weterynaryjnej kraju lub regionu posiadającego status „wolny od pryszczycy”, jest ochrona własnego terytorium przed chorobą, a w przypadku jej wykrycia, niezwłoczne zastosowanie odpowiednich środków zwalczania, w celu ograniczenia szerzenia się, aż do całkowitej jej likwidacji.

W niektórych regionach świata ogniska pryszczycy mogą przybierać rozmiary enzootii. Polityka wybijania i utylizacji zwłok w regionach enzootycznych jest ekonomicznie nieuzasadniona. Kwarantanna zwierząt na tych obszarach jest również trudna do realizacji, ponieważ większość krajów, w których choroba występuje na całym obszarze, nie ma wystarczającej infrastruktury umożliwiającej skuteczne jej przeprowadzenie. Jeśli nawet kwarantanna jest możliwa, ale bez jej zakończenia szczegółowymi badaniami przeglądowymi, to zwierzęta zakażone, które nie zostaną rozpoznane i w porę wyeliminowane, mogą ponownie znaleźć się w populacji zwierząt wrażliwych i wywołać zakażenie. Trzeba zaznaczyć, że większość regionów enzootycznego występowania pryszczycy, to obszary typowo wiejskie, co sprzyja kontaktom zwierząt domowych i dzikich i w konsekwencji do transmisji choroby. Takie interakcje mogą skutkować długotrwałym utrzymywaniem się oraz szerzeniem wirusa w środowisku. Wykazano, że w przypadku wystąpienia na danym obszarze więcej niż 4 ognisk pryszczycy w okresie 10 lat, jej zapobieganie metodą szczepień jest bardziej uzasadnione ekonomicznie niż wybijanie i skuteczniejsze niż kwarantanna. Uważa się, że szczepienie jest obecnie najkorzystniejszą metodą zwalczania pryszczycy na terenach enzootycznych. Należy jednak zaznaczyć, że pomimo powszechnej dostępności szczepionek

przeciwko pryszczycy na rynku, ich wysoka cena ogranicza lub wręcz uniemożliwia ich stosowanie w wielu regionach występowania choroby. Podjęto działania mające na celu ograniczenie kosztów produkcji tradycyjnej szczepionki poprzez wprowadzenie rygorystycznych warunków aseptycznych zapobiegających kontaminacji podczas procesu namnażania wirusa, a także zminimalizowania kosztów badania, dystrybucji i przechowywania gotowej szczepionki. Kraje/regiony dążące do uzyskania statusu „wolny od pryszczycy” podejmują działania w celu zmniejszenia strat w hodowli, kosztów szczepień oraz restrykcji handlowych. Kraje te ograniczają import zwierząt i produktów zwierzęcego pochodzenia oraz prowadzą szczegółową kontrolę ich przemieszczania z krajów graniczących, w których sytuacja epizootyczna jest niekorzystna, w celu zapobieżenia ponownego wprowadzenia wirusa na własne terytorium. Tylko niektóre państwa posiadają wystarczające środki finansowe umożliwiające wdrożenie tych działań, lecz większość krajów, w których pryszczycy występuje endemicznie nie dysponuje odpowiednimi funduszami i potrzebuje zewnętrznej pomocy umożliwiającej realizację programu zwalczania. Przeznaczenie na ten cel środków uzyskanych z Banku Światowego jest coraz trudniejsze ze względu na inne potrzeby i preferencje ekonomiczne krajów rozwijających się. Jeśli nawet uda się uzyskać wstępną pomoc i rozpocznie się odpowiednie działania zapobiegawcze, to bez dalszego wsparcia powodzenie programu może być zagrożone. Jednakże niektóre państwa graniczące z krajami europejskimi wolnymi od pryszczycy, takie jak Turcja, Gruzja i Armenia, otrzymały pomoc na kontynuację szczepień i pomimo, że choroba jeszcze występuje na ich terytorium, to systematyczna immunoprofilaktyka przyczyniła się do znacznego ograniczenia tam ognisk pryszczycy.

Postępowanie na poziomie stada

Strategia zwalczania pryszczycy na obszarze UE polega na stosowaniu metody radykalnej, tj. wybijaniu wszystkich zwierząt wrażliwych na zakażenie w ognisku choroby oraz wokół ogniska (ang. stamping out), a następnie utylizacji ich zwłok i bezpiecznej likwidacji wszelkich produktów pochodzących od takich zwierząt. Ponadto, obowiązują odpowiednie reżimy administracyjno-sanitarne: kwarantanna, kontrola i ograniczenia przemieszczania zwierząt, dezynfekcja oraz szczegółowe badania przeglądowe. Dopuszcza się również szczepienia interwencyjne (ang. emergency vaccination) - pierścieniowe) i wytłumiające - wokół gospodarstw zapowietrzonych, w celu zahamowania szerzenia się choroby poprzez utworzenie strefy buforowej uniemożliwiającej dalsze rozprzestrzenianie się wirusa w środowisku. Od momentu potwierdzenia pryszczycy właściwy organ wyznacza wokół ogniska choroby okrąg zapowietrzony o minimalnym promieniu trzech kilometrów oraz okrąg zagrożony o promieniu dziesięciu kilometrów. W okręgu zapowietrzonym prowadzi się rejestrację wszystkich gospodarstw i spis zwierząt w nich przebywających oraz regularną kontrolę weterynaryjną tych gospodarstw. Ponadto, zabroniony jest transport zwierząt podatnych oraz organizowanie targów i wystaw zwierząt, a także wykonywanie zabiegów sztucznego unasieniania. W okręgu zagrożonym stosuje się środki przewidziane dla okręgu zapowietrzonego, tzn. spis gospodarstw i zwierząt, zakaz transportu zwierząt podatnych i ograniczenia w obrocie mięsa i produktów zwierzęcego pochodzenia (Dz. U. UE L 306/1 z 22.11.2003).

Trzeba jednak zaznaczyć, że zwalczanie pryszczycy metodą radykalną (ang. stamping out), ze względu na standardy dobrostanu zwierząt, jest powszechnie krytykowane i kwestionowane zarówno przez środowiska naukowe, jak i organizacje ekologiczne. Szczególnie duże protesty towarzyszyły

zwalczaniu epizootii pryszczycy w Wielkiej Brytanii w 2001 r., podczas której poddano eutanazji prawie 4 mln zwierząt - bydło, świnie, owce i kozy. Działania te spotkały się z ostrą krytyką farmerów i znacznej części lekarzy weterynarii, a przede wszystkim społeczeństwa brytyjskiego, z powodu olbrzymich strat ekonomicznych, poniesionych głównie w rolnictwie i turystyce. Również z przyczyn psychologicznych oraz etycznych, ponieważ niszczone ogromne ilości mięsa, którym można by wyżywić miliony głodujących ludzi na świecie. Kwestionowano także metody utylizacji dużej ilości zwłok ubitych zwierząt, ze względu na zanieczyszczenie powietrza przez dioksyny uwalniane podczas spalania na wolnym powietrzu, oraz kontaminację gleby i wód gruntowych, w wyniku zakopywania zwłok zwierząt w miejscu ich uboju.

Perspektywy i ograniczenia

W dobie narastającej globalizacji wymiany handlowej, zwalczanie pryszczycy napotyka na coraz większe utrudnienia. Zarówno legalny, jak i nielegalny handel zwierzętami i produktami zwierzęcego pochodzenia był w przeszłości niejednokrotnie źródłem wybuchu choroby. Zbyt liberalna polityka w handlu zwierzętami była przyczyną pojawienia się ognisk pryszczycy w Albanii w 1996 r. oraz rok później na Tajwanie, gdzie źródłem wirusa była nielegalnie sprowadzona żywność oraz zakażone świnie. Bez dostatecznej wiedzy o istniejących zagrożeniach oraz odpowiedniej edukacji, opracowanie efektywnych programów zwalczania i zapobiegania pryszczycy jest niezwykle trudne. Szczególnie ważne jest zapewnienie stałego dostępu do informacji dotyczących choroby oraz przekonanie społeczeństwa do podejmowania odpowiednich działań zapobiegawczych. Zbagatelizowanie problemu oraz brak decyzji o podjęciu badań przeglądowych opóźnia rozpoczęcie właściwych działań zapobiegających szerzeniu się choroby i pogarsza sytuację

epizootyczną. Jako przykład można przytoczyć epizootię pryszczycy w Wielkiej Brytanii w 2001 r., kiedy to od zaobserwowania pierwszych objawów choroby do jej oficjalnego zgłoszenia minęły prawie 3 tygodnie i w tym czasie zakażone zwierzęta trafiły do Francji, Holandii oraz Irlandii. Epizootia ta, tylko Wielką Brytanię kosztowała około 9 mld USD i można przypuszczać, że wcześniejsze zainwestowanie stosunkowo niewielkich środków na szkolenia oraz popularyzację wiedzy o chorobie mogłoby znacznie złagodzić zarówno jej zakres, jak i koszty. Dla zapewnienia szybkiego i skutecznego zwalczania pryszczycy bardzo ważna jest jasno sprecyzowana i sprawnie funkcjonująca współpraca międzynarodowa. Ryzyko transmisji pryszczycy przez granicę może być mniejsze po nałożeniu restrykcji handlowych na kraje, które potwierdziły wystąpienie choroby na ich terytorium. Zdarza się jednak, że kraje zapowietrzone, w celu uniknięcia takich restrykcji, celowo opóźniają zgłoszenie choroby, aby bez przeszkód kontynuować wymianę handlową. Pomimo napotkanych trudności, współpraca międzynarodowa przyczyniła się do znaczącego ograniczenia liczby ognisk pryszczycy w Ameryce Południowej oraz w niektórych krajach azjatyckich. Współpraca pomiędzy państwami, a także na szczeblu lokalnym poszczególnych państw stworzyła podstawy do opracowania i wdrożenia efektywnego, opartego na szczepieniach programu zwalczania pryszczycy. Należy jednak uwzględnić fakt, że program zwalczania pryszczycy obarczony jest wieloma ograniczeniami, których pokonanie decyduje o końcowym sukcesie. Niezwykle ważna jest odpowiednia organizacja edukacji oraz logistyki oraz szybkie i precyzyjne rozpoznanie wirusa z wykorzystaniem urządzeń mobilnych umożliwiających szybką diagnozę w ognisku bez konieczności transportu próbek do laboratorium. Poważną barierę stanowi również wysoka cena szczepionki wyprodukowanej w oparciu

o oczyszczony antygen wirusa pryszczycy, który umożliwia różnicowanie zwierząt zakażonych od szczepionych (DIVA).

Podsumowanie

Konkludując, należy podkreślić, że obserwowana w ostatnich latach globalizacja i intensyfikacja międzynarodowego handlu zwierzętami, a także rozwój wymiany towarowej i komunikacji osobowej sprzyjają wzrostowi zagrożenia pryszczycą. Choroba może pojawić się nagle i niespodziewanie, a jej źródłem może być na przykład wirus obecny w mięsie lub produktach mięsnych pochodzących od zwierząt zakażonych wirusem pryszczycy. Przykładem może być ostatnia duża epizootia choroby w Europie w 2001 r., kiedy to wirus obecny w zakażonym mięsie sprowadzonym nielegalnie z Chin do restauracji w hrabstwie Nortumbria w północno-wschodniej części Anglii, był źródłem wybuchu choroby.

SEKCJA DRÓB

WIRUS ZACHODNIEGO NILU - AKTUALNA SYTUACJA

Jowita Samanta Niczyporuk, Wojciech Kozdruń, Agnieszka Stolarek,
Karolina Piekarska

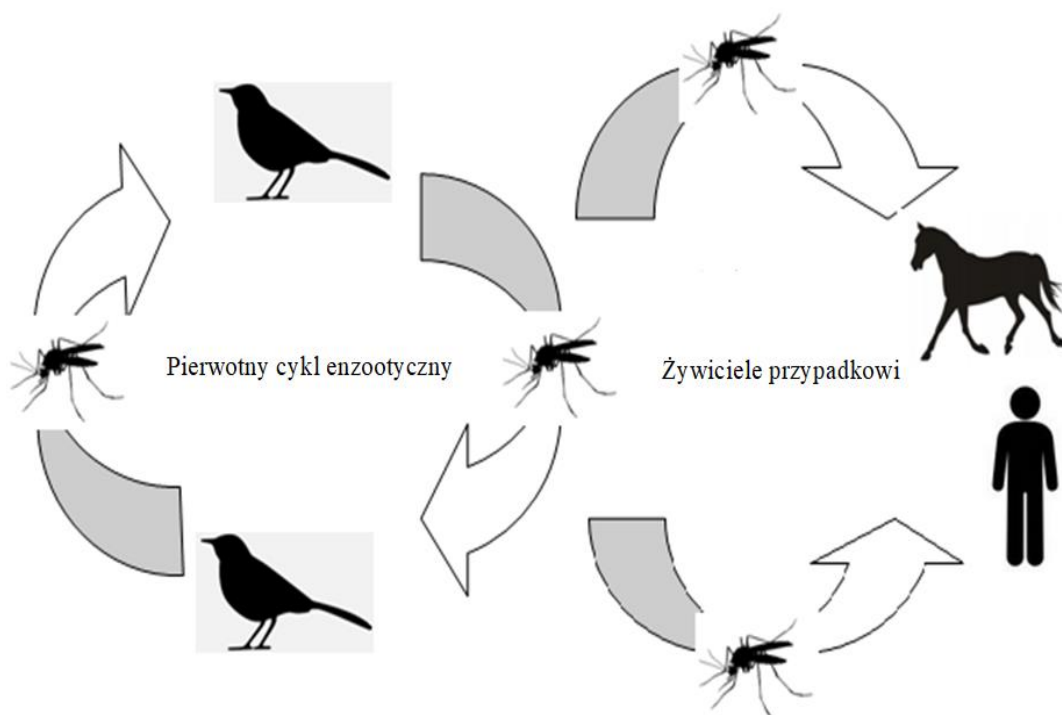
Zakład Chorób Drobiu

Ogólna charakterystyka choroby i czynnika etiologicznego

Wirus Zachodniego Nilu (ang. West Nile Virus, WNV) jest patogenem neurotropowym zaliczanym do arbowirusów i należącym do rodzaju *Orthoflavivirus nilense*. Wywołuje on chorobę określaną jako gorączka Zachodniego Nilu (ang. West Nile Fever WNF). Główną rolę w przenoszeniu wirusa na ludzi odgrywają komary (z rodzaju *Culex*: *Culex pipiens pipiens* oraz *Culex pipiens molestus*) ze względu na ich masowe występowanie w otoczeniu człowieka (wczesne lato – późna jesień).

Wirus krąży w zamkniętym cyklu: ptak-komar-ptak, który tworzy najważniejsze ogniwo, a ssaki, w tym człowiek, są żywicielami raczej przypadkowymi u których to zwykle nie rozwija się wystarczająco wysoki poziom wirerii, aby zakazić komara i kontynuować cykl przenoszenia wirusa (tzw. ślepe ogniwo) (ryc. 1). Najbardziej narażone na zakażenie są ptaki krukowate oraz konie i ludzie. Stały monitoring ptaków i koni jest elementem kluczowym w ocenie ryzyka wystąpienia zakażenia tym wirusem u ludzi.

U komarów możliwa jest transmisja pionowa, między samicami a potomstwem co jest kluczowe podczas okresu zimowania. W cyklu miejskim zakażone komary żerujące na zakażonych ptakach przenoszą wirusa na ludzi.



Ryc. 1 . Cykl życiowy wirusa Zachodniego Nilu.

Nazwa choroby pochodzi od nazwy dystryktu Zachodniego Nilu w Ugandzie, gdzie po raz pierwszy w 1937 r. opisano u starszej gorączkującej kobiety chorobę wywołaną przez nieznanego wcześniej patogen.

Od tamtej pory wirus stale rozszerzał zasięg swojego występowania. Obecnie notowany jest już na wszystkich kontynentach z wyjątkiem Antarktydy.

Początkowo oznaczono dwie odrębne linie genetyczne wirusa Zachodniego Nilu. Linia 1 jest pierwszym sklasyfikowanym rodowodem wirusa Zachodniego Nilu o zasięgu kosmopolitycznym. Epidemie przez nią wywoływane notowane były: w Afryce, Azji, Europie, Ameryki Północnej, Ameryki Południowej oraz Australii i Oceanii. Linia 2 początkowo występowała tylko w krajach Afryki Środkowej, a w późniejszym czasie pojawiła się na

terenie Europy co świadczyło o rozprzestrzenianiu się wirusa, będącego przyczyną licznych zakażeń u ludzi i zwierząt.

Po raz pierwszy, na kontynencie amerykańskim, wirus Zachodniego Nilu pojawił się w Nowym Yorku w 1999 r. i był przyczyną wybuchu epidemii dziesiątkującej populację ptaków krukowatych. Następnie rozprzestrzenił się na terytorium całych Stanów Zjednoczonych. Izolowano go także w Kanadzie, Meksyku, Karaibach i w Ameryce Środkowej. Makak berberyjski (*Macaca sylvanus*) był pierwszym naczelnym innym niż człowiek u którego potwierdzono zakażenie wirusem WNV.

Badania doświadczalne wskazują na wysoką śmiertelność i zakaźność szczepów amerykańskich i izraelskich w populacjach ptaków krukowatych, które często traktowane są jako wskaźnik obecności wirusa na danym obszarze geograficznym.

Epidemiologia

Naturalnym wektorem wirusa są komary, a jego rezerwuarem ptaki różnych gatunków. Wirusa wyizolowano dotychczas od ponad 300 gatunków ptaków. Wodno-błotne ptaki egzotyczne będące naturalnym rezerwuarem wirusa Zachodniego Nilu w krajach strefy międzyzwrotnikowej to: Marabut afrykański (*Leptoptilos crumeniferus*) oraz flaming różowy (*Phoenicopterus roseus*). Potencjalnym głównym rezerwuarem i żywicielem wirusa w Polsce jest Bocian biały (*Ciconia ciconia*). Do gatunków szczególnie narażonych i wrażliwych na zakażenie, dla których jest ono śmiertelne, należą: wrona siwa (*Corvus corone*), wrona amerykańska (*Corvus brachyrhynchos*), sójka błękitna (*Cyanocitta cristata*) i cietrzew większy (*Centrocercus urophasianus*). Badania wykazały, że rudzik amerykański (*Turdus migratorius*) i wróbel domowy (*Passer domowy*) to jedne z najważniejszych gatunków będących rezerwuarem wirusa

w Ameryce Północnej i w Europie. Ogromną rolę w epidemiologii zakażeń a także w szerokim rozprzestrzenieniu geograficznym wirusa Zachodniego Nilu przypisuje się ptakom wędrownym. Coroczne migracje ptaków i ich przemieszczanie się z lęgowiska na zimowiska, które najczęściej położone są na mniejszych szerokościach geograficznych sprzyjają przenoszeniu wirusa. Podczas wędrówek ptaki pokonują tereny niebezpieczne dla ich zdrowia i życia do których zaliczamy morza, oceany, pustynie, półpustynie centralnej Azji, pustynie półwyspu Arabskiego, czy najwyższe góry świata, Himalaje itp. Ponadto, niezmiernie istotnym pod względem epidemiologii wirusa jest fakt, iż na terytorium naszego kraju zlokalizowane są ważne punkty przystankowe ptaków migrujących – żurawia (*Grus grus*), łabędzia krzykliwego (*Cygnus cygnus*), mewy białej (*Pagophila eburnea*), bielaczka (*Mergellus albellus*), gęsi zbożowej (*Anser fabalis*) oraz gęsi białoczelnej (*Anser albifrons*) obejmujące ponad 1% populacji wędrownej. Ujście Warty jest terenem przyrodniczym o znaczeniu ogólnoeuropejskim. Podczas wędrówek ptaków w regionie tym zatrzymuje się do kilkuset tysięcy ptaków (jest to jedno z najważniejszych noclegowisk żurawi i gęsi w Europie).

Wykazano także, że wirus adaptuje się nie tylko do ptaków ale także do wielu żywicieli, a zakażenie potwierdzono u co najmniej 30 gatunków ssaków. U ludzi i koni występują objawy kliniczne, a u tych ostatnich może dochodzić do padnięć. Koty i psy rzadko chorują z objawami klinicznymi zakażenia, pomimo, że badania eksperymentalne dowodzą, że w ich tkankach dochodzi do replikacji wirusa. Obecność materiału genetycznego wirusa Zachodniego Nilu w postaci RNA potwierdzono także u owiec w Kalifornii. Zakażeniu mogą ulec także gady i płazy w tym niektóre gatunki krokodyli, aligatorów, węży, jaszczurek i żab.

Aspekt zoonotyczny

Rozpoznanie gorączki Zachodniego Nilu u człowieka prowadzone jest na podstawie szczegółowych kryteriów przyjętych Decyzją Komisji WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 kwietnia 2008 r. (2008/426/WE) (przypadek potwierdzony choroby lub przypadek prawdopodobny). Jako kryterium kliniczne przypadku potwierdzonego przyjęto występowanie gorączki lub co najmniej wystąpienie jednego z dwóch objawów: 1) zapalenie mózgu lub 2) zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Kryteria laboratoryjne potwierdzenia przypadku są następujące (co najmniej jeden z czterech): 1) izolacja WNV z krwi lub płynu mózgowo-rdzeniowego, 2) wykrycie kwasu nukleinowego WNV we krwi lub płynie mózgowo-rdzeniowym, 3) znamienne wzrost miana swoistych przeciwciał (IgM) anty-WNV w płynie mózgowo-rdzeniowym, wysokie miano przeciwciał IgM anty-WNV oraz wykrycie przeciwciał IgG anty-WNV lub 4) potwierdzenie obecności przeciwciał testem neutralizacji.

Za przypadek potwierdzony uznaje się każdą osobę spełniającą kryteria umożliwiające potwierdzenie laboratoryjnie przypadku oraz sklasyfikowanie do celów sprawozdawczych.

Kryterium laboratoryjnym umożliwiającym stwierdzenie przypadku prawdopodobnego jest wzrost miana swoistych przeciwciał anty-WNV w surowicy. Ponadto, w interpretacji wyników badań serologicznych (obecność przeciwciał) należy wziąć pod uwagę odbyte szczepienia przeciw innym flawiwirusom.

W rozporządzeniu znajdują się także kryteria epidemiologiczne przypadku prawdopodobnego obejmujące co najmniej jedno z następujących dwóch powiązań epidemiologicznych: przeniesienie wirusa ze zwierzęcia na człowieka (zamieszkiwanie, pobyt lub narażenie na ukąszenia komara na

obszarze endemicznego występowania WNV u koni i ptaków), przeniesienie z człowieka na człowieka (zakażenie wertykalne, transfuzja krwi, przeszczep organów).

Przypadek możemy uznać za prawdopodobny, kiedy dana osoba spełnia kryteria kliniczne oraz co najmniej jedno z dwóch kryteriów: 1) powiązanie epidemiologiczne lub 2) dodatni wynik testu laboratoryjnego umożliwiający stwierdzenie przypadku prawdopodobnego.

W 80% przypadków zakażenie u ludzi WNV przebiega bezobjawowo. U około 20% zakażonych występuje gorączka, stany podgorączkowe, bóle głowy, bóle mięśni, bóle stawów, powiększenie węzłów chłonnych, dreszcze, osłabienie ogólne, wzmożona potliwość, nudności i/lub wymioty, brak apetytu lub plamisto-grudkowa wysypka, kaszel, ból gardła, zapalenie spojówek. U mniej niż 1% osób występuje zapalenie mózgu lub zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (ang. West Nile Neuroinvasive Disease - WNND), któremu zazwyczaj towarzyszy sztywność karku, osłabienie siły mięśniowej (asymetryczne), dezorientacja, bóle i zawroty głowy, gorączka i drgawki, niedowład, zmiany osobowości, zaburzenia koncentracji, koordynacji lub pamięci, ataksja, objawy ogniskowego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, a powrót do zdrowia okazuje się niemożliwy. Ryzyko śmierci u osób u których zajęty jest układ nerwowy wynosi około 10%. Brak objawów specyficznych powoduje, że diagnostyka kliniczna tej jednostki chorobowej jest utrudniona.

Kolejną z możliwych dróg szerzenia się zakażenia wirusem jest transfuzja krwi i jej składników, a także transplantacja narządów. Takie drogi zakażenia odnotowano w Stanach Zjednoczonych. Dlatego też, obecnie w bankach dawców wykonywane są testy na identyfikację osób potencjalnie

zakażonych WNV. Opisano także transmisję wirusa z matki na płód podczas ciąży, porodu lub w okresie karmienia piersią.

Do rozwoju ciężkiej choroby predysponowane są osoby powyżej 60 roku życia, obciążone dodatkowymi chorobami współistniejącymi. Diagnoza opiera się zazwyczaj na objawach klinicznych i badaniach laboratoryjnych.

Najlepszym sposobem na uniknięcie zakażenia WNV jest unikanie ukąszeń komarów. Populację komarów można zmniejszać eliminując źródła wilgoci (jak stojące kałuże wody, woda w takich miejscach jak m.in. stare opony, wiadra, rynny i baseny), a stosowane środki odstraszające komary powinny znacząco obniżyć ryzyko kontaktu.

Rozpoznanie

Objawy gorączki Zachodniego Nilu są niespecyficzne. Dlatego też, kluczowym jest przeprowadzenie badań laboratoryjnych w celu potwierdzenia lub wykluczenia zakażenia wirusem. W przypadku wielu gatunków ptaków infekcja przebiega bezobjawowo, a zwierzęta te mogą być rezerwuarem wirusa w łańcuchu zakażeń.

Diagnostyka

Przyżyciowo, do badań serologicznych testami ELISA, które wykrywają specyficzne przeciwciała przeciwko białku otoczki pr-E WNV, pobierana jest krew. Stwierdzenie specyficznych przeciwciał nie wystarczy jednak do potwierdzenia zakażenia wirusem. Dlatego też, równolegle stosowane są techniki biologii molekularnej, takie jak RT-PCR (ang. reverse transcription - polymerase chain reaction) lub RT-PCR w czasie rzeczywistym (ang. real-time quantitative polymerase chain reaction), umożliwiające wykrycie materiału genetycznego (RNA) wirusa Zachodniego Nilu w próbkach mózgowia.

Nieopublikowane badania własne wykazały obecność materiału genetycznego wirusa w wymazach z kloaki i tchawicy od chorych ptaków. To jeden z elementów jaki należy rozważyć biorąc pod uwagę możliwości badania próbek pobieranych przyżyciowo od chorych zwierząt. Potwierdzenie obecności materiału genetycznego wirusa Zachodniego Nilu w badanej próbce jest podstawą do zgłoszenia przypadku wystąpienia gorączki Zachodniego Nilu.

Leczenie

Leczenia przyczynowego brak, a możliwe jest jedynie leczenie objawowe. Środki przeciwzapalne, przeciwgorączkowe, przeciwbólowe, płyny infuzyjne, a dodatkowo antybiotykoterapia, przy wtórnych zakażeniach bakteryjnych, minimalizują ryzyko wystąpienia powikłań. Dotychczas nie opracowano szczepionki przeciwko WNV dla ludzi, Szczepionki dostępne są tylko dla koni. Ich skuteczność jest wysoka jednak istnieje konieczność doszczepiania zwierząt po roku od podania pierwszej dawki.

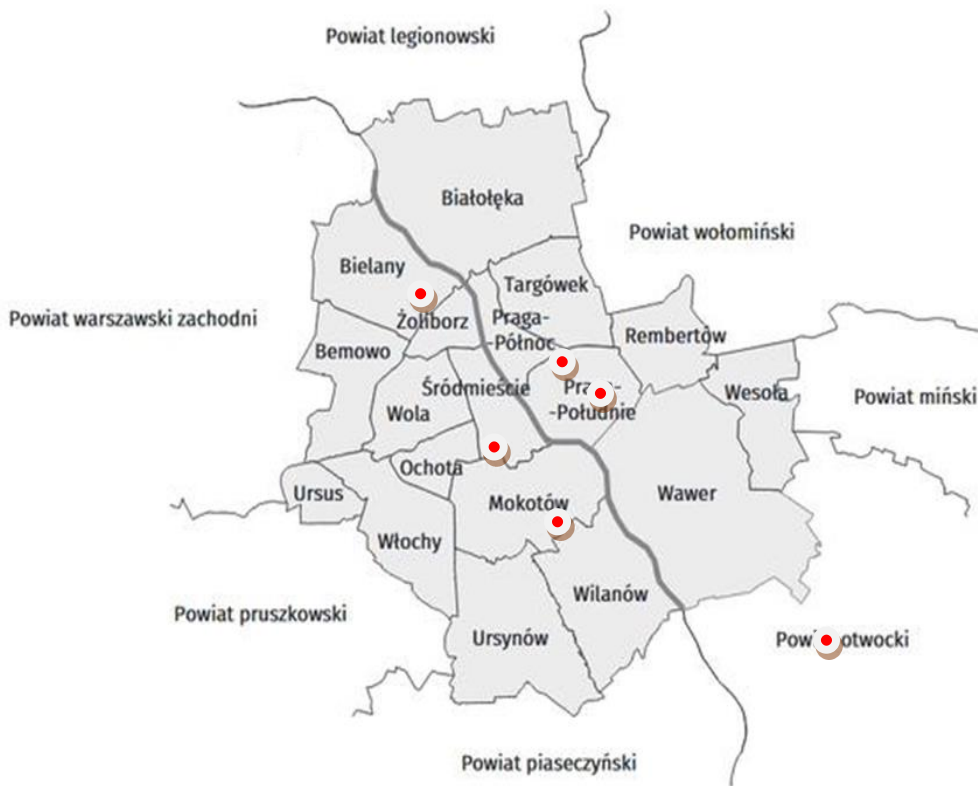
Opis aktualnej sytuacji epidemiologicznej

W ostatniej dekadzie wirus Zachodniego Nilu na stałe zadomowił się w krajach Europy środkowej poszerzając zasięg swojego występowania o nowe regiony geograficzne. Niemal wszystkie kraje Europy środkowej (Francja, Hiszpania, Włochy, Grecja, Cypr, Chorwacja, Niemcy, Austria, Czechy, Węgry, Słowacja) borykały się z zakażeniami tym patogenem ludzi oraz ptaków w okresach wzmożonej aktywności komarów.

Informacje o pierwszych przypadkach wzmożonych padnięć wron siwych na terenie miasta stołecznego Warszawy pojawiały się w mediach w połowie lipca 2024 r. W dniu 24 lipca 2024 r. próbki pobrane od wron siwych trafiły do Państwowego Instytutu Weterynaryjnego - Państwowego Instytutu

Badawczego w Puławach w celu wykluczenia grypy ptaków (ang. Avian Influenza, AI) oraz rzekomego pomoru drobiu (ang. Newcastle Disease, ND). Badania dały wyniki ujemne. W dniu 26 lipca 2024 r. na podstawie objawów neurologicznych jakie obserwowano u wron siwych i danych otrzymanych z wywiadu do PIWet-PIB przesłano próbki w celu diagnostyki wirusologicznej zakażenia wirusem Zachodniego Nilu. W pięciu spośród siedmiu próbek potwierdzono obecność materiału genetycznego wirusa Zachodniego Nilu. Łącznie w okresie dwóch miesięcy przebadano próbki od 156 ptaków. Materiał genetyczny wirusa Zachodniego Nilu wyizolowano od 53 ptaków. Zakażone ptaki pochodziły z pięciu dzielnic Warszawy: Ochoty, Mokotów, Bielan, Pragi Płn. oraz Pragi Płd., ale także z powiatu otwockiego (ryc. 2). Przebieg zakażenia był podobny we wszystkich przypadkach: szybko nasilające się zaburzenia neurologiczne z rozwiniętym zespołem drgawkowym, wylewy krwawe i padnięcia ptaków. Próby leczenia chorych ptaków były bezskuteczne.

Zidentyfikowany szczep wirusa poddano sekwencjonowaniu całego genomu (ang. Whole Genome Sequencing, WGS). We wszystkich próbkach dodatnich stwierdzono ten sam szczep wirusa, który krążył w populacji wron siwych w Warszawie i okolicach Warszawy, powodując masowe padnięcia ptaków. Dotychczas nie zidentyfikowano źródła zakażenia u wron, jednak najbardziej prawdopodobnym jest przeniesienie wirusa przez komara od ptaka migrującego. W kraju od 2007 r. prowadzony jest monitoring zakażeń WNV. Pierwsze zakażenie odnotowano w październiku 2022 r. (przypadek ten opisano w pracy Niczyporuk i wsp. , *Tropical Medicine and Infectious Disease* w 2023, 8, 417). W badaniach własnych wykazano, że sekwencja nowego szczepu z 2024 r. (WNV-2024) jest podobna do sekwencji szczepu z 2022 r. (WNV-2022).



Rycina 2. Lokalizację padłych ptaków zakażonych wirusem Zachodniego Nilu oznaczono czerwonym kółkiem.

W Europie na dzień 4 września 2024 roku odnotowano 715 przypadków zakażenia wirusem WNV: Albania (74), Austria (18), Bułgaria (2), Chorwacja (3), Francja (15), Niemcy (2), Grecja (138), Węgry (43), Włochy (287), Kosowo (2), Płn. Macedonia (1), Rumunia (42), Serbia (27), Hiszpania (54) i Turcja (7). Odnotowano także 51 przypadków śmiertelnych: Grecja (17), Włochy (10), Albania (13), Hiszpania (4), Rumunia (3), Bułgaria (2), Francja (1) i Serbia (1). Wszystkie regiony w których odnotowano gorączkę Zachodniego Nilu w tym roku, były regionami w których zakażenie odnotowano także w roku ubiegłym lub sąsiednie regiony zgłosiły przypadki zakażenia wirusem. W związku z wysokimi dobowymi temperaturami (wyższymi niż dotychczas), sprzyjającymi transmisji WNV w Europie, kolejne przypadki gorączki

Zachodniego Nilu u ludzi w następnych latach są bardzo prawdopodobne. Dotychczas najwięcej zakażeń notowano pomiędzy lipcem a wrześniem, kiedy to aktywność komarów jest największa. Zgodnie z dyrektywami Komisji Europejskiej (2004/33/WE i 2014/110/UE) dotyczącymi bezpieczeństwa krwi, placówki Regionalnych Centrów Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa funkcjonujące w UE powinny stosować tymczasowe kryteria odroczenia oddawania krwi na 28 dni od opuszczenia obszaru ryzyka.

W Europie do 15 września 2024 r. odnotowano 114 przypadków zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u koni: Niemcy (31), Hiszpania (20), Austria (18), Węgry (18), Włochy (13), Francja (12), Grecja (1) i Portugalia (1) oraz 198 przypadków zakażenia u ptaków: Włochy (147), Niemcy (29), Austria (14), Hiszpania (4), Bułgaria (2), Francja (1) i Polska (11).

Ogniska zakażeń wirusem WNV u koniowatych i ptaków należy zgłaszać do Europejskiego systemu, Animal Disease Information System (ADIS). Na poziomie UE obowiązkowe jest zgłaszanie zapalenia mózgu i rdzenia koni spowodowanego zakażeniem WNV i zakażenia wirusem Zachodniego Nilu wśród ptaków zgodnie z rozporządzeniem wykonawczym Komisji (UE) 2018/1882. Dane z działań w zakresie biernego i aktywnego nadzoru gromadzone są przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA). Ze względu na opóźnienia w diagnozowaniu i zgłaszaniu przypadków zakażenia WNV, ale także fakt, że większość zakażeń WNV przebiega bezobjawowo lub skąpo objawowo, liczby przypadków podane w raporcie mogą być niższe od rzeczywistej liczby zachorowań.

Podsumowanie

Ponieważ wektorem wirusa WNV są komary, a ich występowanie zależy ściśle od warunków atmosferycznych (klimatycznych), co jest związane z ich

cyklem rozwojowym, w warunkach ocieplania klimatu i nienaturalnie wysokich dobowych temperatur, oczekuje się zwiększonego występowania tych zachorowań (wpływ na częstość, zasięg, sezonowość i rozprzestrzenianie się wirusa Zachodniego Nilu). Wyższe dobowe temperatury mogą wpływać na proces replikacji wirusa, mogą być przyczyną ewolucji wirusa oraz mieć wpływ na skuteczność jego przenoszenia. Natomiast wyższe temperatury notowane w okresie zimowym i wiosennym mogą przyczynić się do zwiększenia populacji komarów w sezonie letnim, zwiększając ryzyko kontaktu i zakażenia wirusem. W związku ze zmianami klimatycznymi oraz z wystąpieniem zakażenia wirusem Zachodniego Nilu u ptaków w Polsce istnieje realne zagrożenie pojawienia się ognisk tej choroby u ludzi, koni i ptaków, a także powstania trwałego ogniska tego wirusa w naszym ekosystemie. W związku z obecną sytuacją epidemiologiczną uzasadnione jest kontynuowanie badań monitoringowych w kierunku zakażeń wirusem Zachodniego Nilu.

