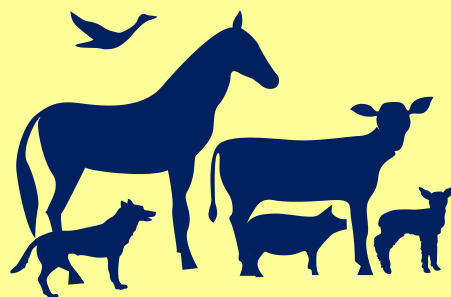


BIULETYN DLA DORADCÓW ODR



nr 2/2022

WYDAWNICTWO

Państwowego Instytut Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego

Puławy 2022

BIULETYN
DLA
DORADCÓW ODR

Redakcja:

prof. dr hab. Krzysztof Niemczuk

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 Pszczoły	5
Zagadnienia związane ze zgnilcem amerykańskim	5
Sekcja Drób	22
Zakaźne zapalenie oskrzeli kur	22
Choroba Mareka.....	33
Sekcja Bydło	45
Zakażenia mykoplazmowe u bydła – znaczenie i aspekt praktyczny zwalczania	45
Wirusowa biegunka bydła – choroba wielu barw.....	54
Sekcja Parazytologiczna	67
Problem zakażeń <i>Alaria alata</i> u dzików	67
Sekcja Różne	76
Kontrola występowania substancji przeciwbakteryjnych w paszach i paszach lecznicznych	76

Sekcja Pszczoły

Zagadnienia związane ze zgnilcem amerykańskim

Marta Skubida

Zakład Chorób Pszczół

Krótką charakterystyka

Zgnilec amerykański (zgnilec złośliwy, ang. american foulbrood – AFB) jest zakaźną i wysoce zaraźliwą chorobą stadium larwalnego (najczęściej zasklepionego – larwy zamknięte w komórkach plastra woskowym wieczkiem) pszczoły miodnej *Apis mellifera* oraz innych gatunków z rodzaju *Apis*. W Polsce, w myśl obowiązujących przepisów, zgnilec amerykański jest jedyną chorobą pszczół podlegającą obowiązkowi zwalczania, a postępowanie w przypadku jego podejrzenia oraz wystąpienia reguluje Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 11 lipca 2016 r. w sprawie zwalczania zgnilca amerykańskiego pszczół (Dz. U. 2016 poz. 1123).

Czynnikiem etiologicznym zgnilca amerykańskiego są gram dodatnie bakterie *Paenibacillus larvae*, które mają zdolność wytwarzania form przetrwalnikowych – endospor (spor, przetrwalników). Spory *P. larvae* są wyjątkowo odporne na temperaturę, wysuszenie i działanie większości chemicznych środków dezynfekcyjnych. Formy wegetatywne *P. larvae* giną w temperaturze 6°C po 15 minutach, natomiast około 10% spor przeżywa ponad 50-godzinne oddziaływanie temperatury 108°C. Alkoholowe środki dezynfekcyjne są nieskuteczne, a powszechnie stosowany w weterynarii roztwór wodny preparatu Virkon S niszczy przetrwalniki *P. larvae* dopiero w 90% stężeniu (po co najmniej 10 minutowej ekspozycji). Spory znajdujące się w wyschniętych larwach, wosku oraz miodzie nie tracą zakaźności nawet

przez 10 lat. Tylko spory są zdolne do indukowania zakażenia, a liczba potomnych spor w jednej, zakażonej larwie może sięgać miliarda.

Wyróżnia się 5 genotypów *P. larvae* (ERIC I – ERIC V) – wszystkie są patogeniczne dla pszczoły miodnej. Dla larw bardziej zjadliwe są szczepy ERIC II-V, w przypadku ERIC II 100% zakażonych larw ginie już po 7 dniach. Przy infekcji wywołanej przez szczepy genotypu ERIC I wszystkie zakażone larwy giną po upływie 12 dni. Wirulencja szczepów poszczególnych genotypów dla rodzin pszczelich jest odwrotnie proporcjonalna do ich zjadliwości w stosunku do pojedynczych larw, tak więc zakażenie szczepami ERIC I prowadzi do szybszej śmierci rodziny pszczelej niż infekcja ERIC II-V.

Zgnilec amerykański jest chorobą wyłącznie czerwiu pszczelego, dorosłe owady nie są wrażliwe na zakażenie, ale za ich pośrednictwem dochodzi do rozprzestrzeniania bakterii w obrębie całego środowiska wewnętrznego ula, w tym zanieczyszczenia sporami gromadzonych w gnieździe zapasów pokarmu (miodu, pierzgi). Pomędzy rodzinami/pasiekami choroba szerzy się także za pośrednictwem pszczół (rabujących, błędzących, rojów), jak również poprzez zanieczyszczone sporami produkty pszczele (miód, воск) i/lub sprzęt pasieczny (ule, plastry, narzędzia).

Do zakażenia larw dochodzi drogą pokarmową – poprzez spożycie pokarmu zanieczyszczonego sporami *P. larvae*. W świetle jelita środkowego larwy spory kiełkują i dochodzi do intensywnego namnażania się bakterii, po kilku dniach bakterie penetrują ścianę jelita, niszcząc kolejno błonę perytroficzną, połączenia międzykomórkowe nabłonka jelita oraz substancję międzykomórkową i przedostają się do jamy ciała. Proces ten prowadzi do zamierania larw i rozkładania ich tkanek.

Epidemiologia choroby

Zgnilec amerykański występuje na całym świecie. Sytuacja epidemiologiczna AFB w polskich pasiekach nie jest obecnie monitorowana, wiadomo jednak, że choroba notowana jest na obszarze całego kraju. W latach 2002-2008 Inspekcja Weterynaryjna rejestrowała rocznie od 25 do 50 ognisk AFB. Od roku 2009 liczba wykrytych ognisk choroby stopniowo rosła – od 80 do 260 w roku 2019, 149 ognisk AFB w 2020, a w 2021 liczba ta znacznie spadła i wyniosła 67. Uznaje się, że znaczna część klinicznych przypadków choroby pozostaje nierozpoznana lub nie zostaje zgłoszona przez właścicieli pasiek. Świadczą o tym m.in. wyniki, realizowanych w latach 2009-2013 w Zakładzie Chorób Pszczół PIWet-PIB badań monitoringowych, których celem było pozyskanie danych na temat sytuacji epizootycznej zgnilca amerykańskiego w krajowych pasiekach, poprzez ocenę występowania i rozprzestrzenienia bakterii *P. larvae* w rodzinach pszczelich oraz określenie poziomu ich zakażenia, w oparciu o badanie próbek miodu pobieranych z rodzin. Badaniami objęto obszar całej Polski. Ogółem pobrano próbki z 4090 pasiek, w których stacjonowało 125 750 rodzin pszczelich. Udział pasiek, w których stwierdzono zakażone rodziny był znaczny – wyniósł 38%, z czego w 1/3 (13%) pasiek wykryto rodziny, w których, ze względu na poziom zakażenia (określony na podstawie liczby spor w próbce zapasów pokarmu) ryzyko rozwoju zgnilca amerykańskiego było wysokie. Wyniki pięcioletnich badań wykazały szerokie rozprzestrzenienie bakterii *P. larvae* w pasiekach na terenie wszystkich regionów objętych badaniami. Uwagę zwraca wyraźny podział Polski na dwie, różniące się pod względem sytuacji epizootycznej zgnilca amerykańskiego, części. W województwach centralno-wschodniej części kraju udział pasiek, w których wykryto *P. larvae*, wynosił od 30 do

ponad 70%, w województwach Polski zachodniej nie przekraczał 30% (poza województwem pomorskim).

Szczególnie wysokie ryzyko rozwoju choroby stwierdzono w regionie południowej i południowo-wschodniej części kraju oraz, na mniejszym obszarze, w Polsce północnej. Na południu i wschodzie zagrożony obszar rozciągał się wzdłuż trzech sąsiadujących województw: małopolskiego, podkarpackiego i lubelskiego. Najgorszą sytuację stwierdzono w województwie małopolskim – bakterie *P. larvae* wykryto w próbkach pochodzących z 71% przebadanych pasiek, przy czym w 36% pasiek stwierdzono obecność rodzin pszczelich, których poziom zakażenia był wysoki. W pasiekach administracyjnie należących do województwa podkarpackiego zakażone rodziny wykryto ogółem w 48% pasiek, a w niemal połowie powiatów, pasieki, w których obecne były spory *P. larvae* stanowiły ponad 50%. W pasiekach leżących na terenie województwa lubelskiego obecność bakterii wykryto w 44% gospodarstw pasiecznych, z czego blisko 19% stanowiły pasieki o wysokim ryzyku rozwoju choroby. Na terenie województwa warmińsko-mazurskiego *P. larvae* wykryto w blisko 60% pasiek. Istotnie najniższy odsetek pasiek (<30%), w których zapasy pokarmu zanieczyszczone były sporami, stwierdzono w północno i południowo-zachodniej części kraju, obejmującej województwa: zachodniopomorskie, kujawsko-pomorskie, lubuskie, wielkopolskie, dolnośląskie, opolskie i śląskie. Na terenie pozostałych województw (podlaskiego, mazowieckiego, łódzkiego, świętokrzyskiego i pomorskiego) obecność *P. larvae* wykryto w 30-40% pasiek.

Na podstawie danych Głównego Inspektoratu Weterynarii, dotyczących liczby ognisk AFB w latach 2009-2013 (czyli w latach realizacji monitoringu pasiek), można uznać, że choroba dotykała jedynie od 0,2 do 0,4% krajowych pasiek

rocznie. Tak więc, wyniki badań monitoringowych PIWet-PIB – poparte wykazaną, dodatnią korelacją pomiędzy poziomem zanieczyszczenia miodu sporami *P. larvae*, a rozwojem klinicznej postaci AFB – wskazują na znacznie gorszą sytuację epizootyczną tej choroby w krajowych pasiekach. Według badań niemieckich, w ponad 90% rodzin pszczelich, w których zanieczyszczenie próbki miodu sporami *P. larvae* było wysokie, dochodziło do rozwoju choroby stwierdzanej podczas badania klinicznego.

Porównanie sytuacji epizootycznej zgnilca amerykańskiego w różnych regionach Europy czy świata jest trudne, przede wszystkim ze względu na brak ujednoczonych procedur badawczych oraz etapu pobierania próbek. W latach 2012-2014 na terenie 16 państw Unii Europejskiej realizowano pierwszy, zharmonizowany program aktywnego nadzoru nad stratami rodzin pszczelich (EPILOBEE). Celem programu było określenie występowania chorób i pasożytów pszczół, w tym zgnilca amerykańskiego (próbki w tym kierunku pobierane były w przypadku występowania objawów klinicznych). W czasie trwania programu badaniami objęto ogółem ponad 60 tys. rodzin pszczelich, stacjonujących w 6214 pasiekach. W Polsce badania przeprowadzono w 6354 rodzinach pszczelich, w 285 pasiekach stacjonujących na terenie województwa lubelskiego. Badania wykazały zróżnicowaną prewalencję zgnilca amerykańskiego w nadzorowanych pasiekach w poszczególnych państwach. W sezonie 2012/13 w 4 krajach nie stwierdzono występowania choroby, najwięcej ognisk stwierdzono we Francji, na Łotwie, w Polsce, Grecji i Estonii. W kolejnym roku badań, odsetek pasiek z objawami klinicznymi AFB był niższy, ale ognisk choroby nie stwierdzono jedynie w Niemczech. Na Łotwie ponownie stwierdzono wysoki odsetek pasiek, w których potwierdzono występowanie choroby. W Polsce, wśród pasiek objętych nadzorem, odsetek ten, w zależności od pory roku,

wynosił od 1,6 do 4,7% w sezonie 2012/2013, a w sezonie 2013/2014 pozostawał na niskim poziomie i wahał się od 0,5 do 1,1%.

Ogniska AFB, w podobnym odsetku, stwierdzone były w pasiekach objętych nadzorem w ramach Programu Wieloletniego PIWet-PIB. W latach 2014-2019, na około 400 pasiek z terenu całej Polski, obejmowanych badaniami w cyklu lato-wiosna (każdy cykl obejmował inne pasieki), przypadki zgnilca amerykańskiego rozpoznawane były w 0,6-3% pasiek. W latach 2020-2021 w ramach ww. programu w ogóle nie pobrano próbek czerwiu z objawami sugerującymi wystąpienie AFB.

W latach 2016-2017 w Zakładzie Chorób Pszczół PIWet-PIB przeprowadzono genotypowanie szczepów *P. larvae* wyizolowanych z próbek miodu pobieranych w latach 2009-2013 (10 próbek z każdego województwa) oraz 34 próbek czerwiu zgromadzonych w latach: 2010; 2012-2016. Wśród 160 wytypowanych do badań próbek miodu obecność tylko szczepów *P. larvae* genotypu ERIC I stwierdzono w 122 próbkach (76,3%), w 25 próbkach (15,6%) stwierdzono tylko szczepy należące do genotypu ERIC II, w pozostałych 13 próbkach (8,1%) stwierdzono jednoczesne występowanie obydwu genotypów. W przypadku próbek czerwiu zakażenie tylko szczepami genotypu ERIC I stwierdzono w 19 próbkach (55,9%), zakażenie tylko szczepami genotypu ERIC II w 8 próbkach (23,5%), a zakażenie mieszane (ERIC I i II) w 7 próbkach (20,6%). W żadnej z badanych próbek miodu i czerwiu nie stwierdzono obecności szczepów *P. larvae* pozostałych genotypów. Na obszarze północnej Polski (województwa: zachodniopomorskie, pomorskie, kujawsko-pomorskie, warmińsko-mazurskie) stwierdzono występowanie jedynie szczepów genotypu ERIC I. W centralnej części Polski i na południu kraju występowały zarówno szczepy genotypu ERIC I, jak i ERIC II. Na terenie województw: lubuskiego,

dolnośląskiego, wielkopolskiego, mazowieckiego, świętokrzyskiego, podlaskiego, lubelskiego oraz podkarpackiego przeważała obecność szczepów genotypu ERIC I. W województwie opolskim oraz łódzkim obecność genotypów ERIC I i II stwierdzono w podobnej liczbie pasiek. Na obszarze województw małopolskiego oraz śląskiego liczba pasiek, w których stwierdzono szczepy ERIC II znacznie przewyższała liczbę pasiek, gdzie występowały bakterie *P. larvae* ERIC I.

Aspekt ekonomiczny zakażeń

W ognisku zgnilca amerykańskiego powiatowy lekarz weterynarii (PLW) może nakazać całkowite zniszczenie pni (rodzina pszczoła wraz z ulem) bądź rodzin pszczelich. Za rodziny pszczele zabite z nakazu Inspekcji Weterynaryjnej, albo za zwierzęta padłe w wyniku wykonywania zabiegów nakazanych przez IW przy zwalczaniu zgnilca amerykańskiego, pszczelarzowi przysługuje odszkodowanie w wysokości wartości rynkowej rodziny pszczelej (zależnej od pory sezonu – stąd różnice przy wycenie). Wartość rynkowa określana jest na podstawie średniej z trzech kwot oszacowanych przez PLW oraz dwóch wyznaczonych przez niego rzeczoznawców. Odszkodowanie przysługuje także za zniszczony podczas działań administracyjnych sprzęt i produkty pszczele. Tryb szacowania kwoty odszkodowania regulowany jest Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 lipca 2009 r. w sprawie rzeczoznawców wyznaczonych przez powiatowego lekarza weterynarii do przeprowadzenia szacowania (Dz.U. 2009 nr 142 poz. 1161).

Rozpoznanie/diagnostyka

Objawy kliniczne zgnilca amerykańskiego mogą być różne i zależą od genotypu bakterii, którym zakażona jest rodzina oraz od stadium choroby. Na rozwój i przebieg choroby ma także wpływ siła rodziny pszczelej oraz, bazująca na zachowaniu higienicznym pszczół, a uwarunkowana genetycznie, odporność rodziny pszczelej na AFB. Czerw zamiera najczęściej w stadium larwy wyprostowanej bądź przedpoczwarki (zakażenie ERIC I), przy zakażeniu ERIC II-V może zamierać już w stadium larwy zwiniętej. Towarzyszy temu zmiana zabarwienia i konsystencji ciała. Larwy (początkowo perłowo-białe) stają się kremowo-brązowe, tracą napięcie tkankowe, zaciera się ich segmentacja ciała. Powoli zmieniają się w bezkształtną, ciemnobrązową, ciągliwą i kleistą masę, wydzielającą nieprzyjemny, specyficzny zapach (określany czasem zapachem kleju stolarskiego lub palonego rogu). Po upływie około miesiąca substancja ta wysycha i zmienia się w ciemnobrązowe tuski, ściśle przylegające do bocznych ścian komórek. W niektórych przypadkach larwy mogą posiadać konsystencję wodnistą (zakażenie genotypem ERIC II). Objawy chorobowe w stadium poczwarki obserwowane są rzadko, jeżeli jednak czerw zamiera na tym etapie rozwoju, narząd gębowy tzw. „języczek” wystaje ponad zdeintegrowane ciało poczwarki do wnętrza komórki. Jest to dość charakterystyczny objaw choroby, jednak nieczęsto obserwowany. Wyraźne zmiany chorobowe w rodzinie stwierdza się po około 3-6 tygodniach (zmiana wyglądu zasklepów woskowych na komórkach z czerwiem). Zasklepy komórek z chorym czerwiem mogą być zapadnięte i podziurawione (otworki w zasklepiach są nieregularne i mają postrzępione brzegi), część z nich może być już całkowicie odsklepiona i zawierać martwy czerw w różnych stadiach zmian chorobowych, bądź może być pusta –

pszczoły usuwają z ula martwe larwy. Na plastrach mogą również znajdować się prawidłowo zasklepione komórki ze zdrowym czerwiem. Obecność zdrowego i chorobowo zmienionego czerwiu oraz pustych komórek na plastrach określa się mianem „czerwiu rozstrzelonego”. Choroba zwykle postępuje w rodzinie pszczelej aż do momentu, w którym większość larw jest zakażonych. Zakażenie i zamieranie dużej liczby larw powoduje stopniowe zmniejszanie się populacji dorosłych pszczół robotnic, co prowadzi do słabnięcia rodziny, a w rezultacie do jej osypania się. Do nasilenia objawów AFB dochodzi najczęściej wraz ze schyłkiem lata i na początku jesieni. Objawy często jako pierwsze pojawiają się w najsilniejszych rodzinach w pasiece. Rozpoznanie zgnilca amerykańskiego następuje wówczas, gdy stwierdzenie objawów klinicznych choroby w rodzinie pszczelej potwierdzone jest dodatnim wynikiem badań laboratoryjnych czerwiu (wykryciem w próbce czerwiu bakterii *P. larvae*).

Najczęściej wykorzystywaną metodą diagnostyczną (stosowaną również przez laboratoria urzędowe Zakładów Higieny Weterynaryjnej – zgodnie z obowiązującą Instrukcją Głównego Lekarza Weterynarii) jest metoda hodowlana z potwierdzeniem mikroskopowym i biochemicznym. Zasada metody polega na izolacji, na stałych podłożach agarowych, obecnych w próbce bakterii *P. larvae* oraz ich identyfikacji. Metoda hodowlana najlepiej sprawdza się w wykrywaniu zakażenia rodzin pszczelich – w oparciu o badanie próbek miodu (zapasów pokarmu cukrowego), wosku, pszczół czy osypu. W przypadku próbek czerwiu możliwe jest również zastosowanie metody PCR, która pozwala na wykrycie materiału genetycznego bakterii (pochodzącego z form wegetatywnych).

Zastosowanie w diagnostyce terenowej mogą mieć komercyjne, szybkie testy kasetowe do diagnozowania zgnilca amerykańskiego pszczół,

bazujące na metodzie immunologicznej, z zastosowaniem przeciwciał. Zestawy służą do potwierdzenia bądź wykluczenia obecności *P. larvae* w larwach pszczelich, wykazujących objawy chorobowe.

Próbki do badań

Rodzaj pobieranych próbek, sposób ich pobierania i pakowania, a także warunki przesyłania materiału do badań określone są w załączniku do rozporządzenia w sprawie zwalczania zgnilca amerykańskiego pszczół.

Rodzaj materiału pobieranego do badania zależy jest od jego celu. W przypadku rodzin pszczelich wykazujących objawy kliniczne – w celu potwierdzenia lub wykluczenia choroby, materiał do badania zawsze powinien stanowić chorobowo zmieniony czerw pszczeli. W pasiekach wyznaczonych już jako ognisko AFB, z rodzin, w których nie obserwuje się objawów klinicznych choroby – po to aby stwierdzić czy również zostały zakażone – materiałem do badań jest w pierwszej kolejności miód (zapasy pokarmu cukrowego), w przypadku kiedy w rodzinie nie są dostępne zapasy pokarmu do badań pobierane są: wosk, pszczoły bądź próbki osypu (te same rodzaje materiału pobiera się na potrzeby badań monitoringowych/programów prewencyjnych).

Plaster z czerwiem lub jego wycinek o powierzchni 20 cm², zawierający jak najwięcej chorobowo zmienionych lub martwych larw, nie powinien zawierać miodu. Każdą z próbek należy oddzielnie umieścić w papierowym opakowaniu, na którym zapisuje się numer pnia pszczelego wraz z numerem próbki pozwalającym na jej identyfikację. Próbki należy umieścić w twardym, kartonowym pudełku, zabezpieczającym przed zgnieceniem. Na opakowaniu zewnętrznym powinien znaleźć się napis:

„Materiał zakaźny! Nie otwierać w czasie transportu.” Próbki czerwiu należy przechowywać i transportować w temperaturze poniżej 0°C.

Do pakowania próbek czerwiu nie należy używać materiałów utrudniających przepływ powietrza (torby plastikowe, folia aluminiowa, opakowania szklane lub metalowe), które sprzyjają rozwojowi pleśni i utrudniają bądź uniemożliwiają wykonanie badań.

Do stwierdzenia zakażenia poszczególnych rodzin próbki miodu powinny być pobrane indywidualnie, bezpośrednio z pni pszczelek. Miejscem rekomendowanym do ich pobierania są komórki plastrów położone w pobliżu czerwiu. Próbki należy pobierać jednorazowymi łyżeczkami lub szpatułkami, do plastikowych (bądź szklanych) sterylnych pojemników ze szczelną zakrętką (np. pojemniki na mocz). Objętość próbki miodu powinna wynosić co najmniej 40 ml. Próbki miodu mogą być przechowywane w temperaturze pokojowej lub w temperaturze chłodziarki. Możliwe jest także pobieranie próbek zbiorczych (np. z kilku rodzin) lub próbek z miodu już odwirowanego, na przykład do badań monitoringowych. W takich przypadkach wykrycie przetrwalników w próbce nie pozwala na dokładne zidentyfikowanie zakażonych rodzin, a jedynie potwierdza występowanie zakażenia w pasiece.

Próbki wosku, w postaci wycinków z pustych plastrów (powierzchnia wycinka co najmniej 200 cm²) powinny zostać pobrane indywidualnie, bezpośrednio z pni pszczelek, opakowane w papier, oznakowane, a następnie umieszczone w zewnętrznym opakowaniu tekturowym bądź plastikowym. Próbki wosku mogą być przechowywane i transportowane w temperaturze pokojowej. Do badań można przestać również próbkę węzy pszczelej – dotyczy to producentów i dystrybutorów węzy, a także pszczelarzy chcących skontrolować czystość mikrobiologiczną zakupionej węzy przed

umieszczeniem jej w rodzinach. Próbką węzy powinna mieć powierzchnię co najmniej 200 cm².

Próbkę pszczoł powinno stanowić minimum 30 owadów dorosłych, strząśniętych lub zmiecionych z plastrów z czerwem, (optymalnie ok. 100 pszczoł/próbkę). Pszczoły pobrane do pojemników powinny zostać uśmiercone przez zamrożenie lub uśpienie (np. CO₂, eter, octan etylu) i umieszczone w papierowym lub tekturowym opakowaniu, które przechowuje się i przewozi w temperaturze poniżej 0°C. Dopuszczalne jest także dostarczenie próbek pszczoł do badań w szczelnym pojemniku, w 70% roztworze etanolu.

Osyp powinien być pobrany z dna poszczególnych uli w objętości co najmniej szklanki (200ml) i zapakowany w opakowanie papierowe. Próbki osypu należy przechowywać i transportować w temperaturze poniżej 0°C.

Leczenie

Postępowanie w zwalczaniu zgnilca amerykańskiego ogranicza się do zastosowania nakazów zawartych w Rozporządzeniu w sprawie zwalczania zgnilca amerykańskiego pszczoł – likwidacji całej rodziny pszczelej, bądź likwidacji chorego czerwiu i przesiedleniu pszczoł do nowego lub odkażonego ula. Poza obowiązkiem zwalczania choroby wynikającym z uregulowań prawnych, w krajach EU żaden z preparatów antybakteryjnych nie jest zarejestrowany jako preparat do stosowania u pszczoł. Podawanie rodzinom pszczelim jakichkolwiek chemioterapeutyków w celu zwalczania zgnilca amerykańskiego jest zatem niezgodne z przepisami weterynaryjnymi. Niezależnie od obowiązującego prawodawstwa, podawanie antybiotyków jest niewskazane również z tego względu, iż nie prowadzi do wyleczenia rodzin, a jedynie zamaskowania na pewien czas objawów choroby. Stosowanie leków

wiąże się także z ryzykiem przechodzenia substancji chemicznych do produktów pszczelich, co stwarza zagrożenie dla zdrowia konsumentów.

Profilaktyka

Zapobieganie chorobie opiera się przede wszystkim na zachowywaniu higieny podczas pracy w pasiece oraz na prawidłowym i regularnym przeprowadzaniu zabiegów higieniczno-hodowlanych. W profilaktyce zgnilca amerykańskiego istotny jest również nadzór sanitarny nad produkcją węzy oraz kontrola importu matek pszczelich i pszczół. Do wymienionych w rozporządzeniu działań zapobiegających wystąpieniu choroby w pasiece należą:

- regularna i sukcesywna wymiana plastrów na ramki z węgą wytworzoną z wosku poddanego procesowi sterylizacji;
- przesiedlanie pszczół;
- poddawanie wosku pozyskanego z plastrów procesowi sterylizacji;
- niepozostawianie w pasiece niezabezpieczonych przed dostępem pszczół pustych uli, sprzętu pszczelarskiego i plastrów;
- kontrola plastrów z czerwiem podczas przeglądu rodziny pszczelej;
- bieżące oczyszczanie i odkażanie wyposażenia, sprzętu i urządzeń pasiecznych oraz wycofanych z użytkowania uli;
- nie wprowadzanie do pasieki rodzin pszczelich o nieznanym stanie zdrowotnym;
- ograniczenie okoliczności sprzyjających rabunkom, w szczególności przez: dokarmianie rodzin pszczelich po ustaniu lotów pszczół, zabezpieczenie plastrów z miodem lub z zapasami pokarmu przed dostępem pszczół, ograniczenie czasu przeglądu rodzin pszczelich, niepozostawianie otwartych gniazd, zmniejszenie wylotu ula rabowanej

rodziny pszczelej, uszczelnienie pni pszczelich oraz utrzymywanie w pasiece tylko silnych rodzin pszczelich.

Postępowanie na poziomie pasieki

Rozporządzenie o zwalczaniu zgnilca amerykańskiego pszczół reguluje sposób i tryb postępowania przy wykrywaniu i zapobieganiu rozwojowi zgnilca amerykańskiego, podejrzeniu choroby, stwierdzeniu choroby oraz przy wygaszaniu ogniska choroby. Określa także środki stosowane przy zwalczaniu choroby oraz opisuje sposób przeprowadzania czyszczenia i odkażania.

Rozporządzenie opisuje dwie sytuacje, w których postępowanie jest różne:

- stwierdzenie przetrwalników w pasiece – potwierdzenie badaniami laboratoryjnymi obecności *P. larvae*, w pobranym z rodziny pszczelej materiale innym niż chorobowo zmieniony lub martwy czerw;
- stwierdzenie choroby w pasiece – stwierdzenie objawów klinicznych choroby w rodzinie pszczelej potwierdzone dodatnim wynikiem badań laboratoryjnych próbki czerwiu.

W pierwszym przypadku PLW dokonuje przeglądu rodzin pszczelich, w ramach którego przeprowadza badanie kliniczne wszystkich rodzin znajdujących się w pasiece. W przypadku braku podejrzenia wystąpienia choroby (brak objawów klinicznych obserwowanych podczas przeglądu rodzin pszczelich) informuje pszczelarza o działaniach mogących zredukować obecność czynnika zakaźnego choroby i zapobiegających dalszemu jego rozwojowi. Przy podejrzeniu wystąpienia choroby PLW przeprowadza dochodzenie epizootyczne oraz badania kliniczne wszystkich rodzin pszczelich stacjonujących w pasiece. Jeżeli podczas badania stwierdzone zostaną objawy kliniczne wskazujące na wystąpienie zgnilca amerykańskiego, z każdej

z rodzin, w której stwierdzono objawy, pobierane są próbki czerwiu do badań diagnostycznych. W czasie oczekiwania na wyniki PLW zakazuje przemieszczania z pasieki oraz do pasieki: pni pszczelich, rodzin pszczelich, pszczół, matek, plastrów, uli i ich wyposażenia, sprzętu i narzędzi pasiecznych, a także produktów pszczelich, wprowadza również zakaz pozyskiwania produktów pszczelich od rodzin podejrzanych o chorobę. Kiedy zachodzi podejrzenie, że czynnik zakaźny choroby mógł być przeniesiony do innej lub z innej pasieki, PLW informuje o podejrzeniu wystąpienia choroby powiatowych lekarzy weterynarii właściwych ze względu na miejsce położenia tych pasiek, którzy po otrzymaniu tych informacji oraz na podstawie przeprowadzonej analizy ryzyka mogą przeprowadzić badanie kliniczne rodzin pszczelich w pasiece/pasiekach, których dotyczy ta informacja.

W przypadku stwierdzenia choroby w pasiece powiatowy lekarz weterynarii wyznacza ją jako ognisko choroby oraz określa obszar zapowietrzony (o promieniu co najmniej 6 km). Podtrzymywane są zakazy przemieszczania (jak w czasie oczekiwania na wyniki), a zakaz pozyskiwania produktów pszczelich dotyczy rodzin, w których stwierdzono chorobę. Po przeprowadzeniu analizy ryzyka produkty pszczele z rodzin niewykazujących objawów klinicznych choroby mogą być przemieszczane w ramach sprzedaży bezpośredniej lub do zastosowania związanego z obróbką zapewniającą inaktywację przetrwalników. O postępowaniu z chorymi rodzinami decyduje PLW, który w zależności od jego oceny uwzględniającej porę roku, liczbę rodzin pszczelich, zaawansowanie rozwoju choroby, kondycję rodzin pszczelich oraz stan techniczny uli i rodzaj materiału, z jakiego są wykonane może nakazać: spalenie chorego pnia lub chorej rodziny i jej gniazda (po uprzednim zabiciu pszczół) albo przesiedlenie

pszczoł z chorej rodziny i spalenie jej gniazda. Przesiedlenie chorych rodzin ma na celu oddzielenie pszczoł dorosłych od czerwiu oraz zanieczyszczonego ula. Wykonuje się tzw. przesiedlenie podwójne – z ula do rojnicy (transportówki) i po 24-godzinnej głodówce do nowego lub odkażonego ula, względnie przesiedlenie pojedyncze – bezpośrednio do odkażonego ula na ramki z węzą (również z zastosowaniem 24-godzinnej głodówki). Głodówka ma na celu usunięcie spor *P. larvae* z przewodu pokarmowego przesiedlanych pszczoł. Zabieg przesiedlenia należy wykonywać wieczorem. Najlepiej jest to robić podczas trwania pożytku lub przed głównym pożytkiem, gdy istnieje gwarancja, że rodziny zdążą wychować zdrowy czerw, odbudować gniazdo i zgromadzić odpowiednią ilość zapasu na zimę.

W pasiece wyznaczonej jako ognisko choroby nakazane jest przeprowadzenie oczyszczania i odkażania (sposób przeprowadzania tych zabiegów opisany jest w załączniku do rozporządzenia), a z każdej z rodzin pszczelich niewykazujących objawów klinicznych do badań diagnostycznych pobierane są próbki miodu (zapasów pokarmu cukrowego), w przypadku ich braku próbki wosku, pszczoł lub osypu.

Po stwierdzeniu w ww. próbkach przetrwalników PLW nakazuje przesiedlenie oraz spalenie gniazd rodzin, w których wykryto czynnik zakaźny oraz przeprowadzenie oczyszczania i odkażania pozostałych po nich uli. W obszarze zapowietrzonym powiatowy lekarz weterynarii dokonuje przeglądu wszystkich rodzin pszczelich w pasiekach.

Odkażanie, po uprzednim oczyszczeniu, przeprowadza się przy użyciu środków fizycznych (spalenie sprzętów drewnianych, opalenie wnętrza drewnianych uli i sprzętów metalowych, użycie wysokiej temperatury: zanurzenie w płynnym wosku parafinowym o temp. 160°C przez co najmniej 10 minut), albo z użyciem produktów biobójczych – zgodnie z obowiązującą

ustawą o produktach biobójczych i aktualnym wykazem produktów biobójczych. W przypadku zwalczania zgnilca amerykańskiego do odkażania stosowane są preparaty zawierające jako substancję czynną podchloryn sodu.

Metody odkażania:

- Wnętrze uli drewnianych nadających się do dalszego użytku należy opalić do zbrązowienia drewna (płomieniem lampy benzynowej lub gazowej albo poprzez napełnienie słomą lub papierem i podpalenie).
- Ule z tworzyw sztucznych (styropianowe, poliuretanowe) należy odkażyć poprzez wyszorowanie (wewnątrz i z zewnątrz) produktem biobójczym. Taki sam sposób odkażania można zastosować również w przypadku uli drewnianych.
- Drewniane elementy (korpusy) oraz wyposażenie uli (belecзки, ramki, podkarmiaczki) można odkażyć przez zanurzenie na 10 min. w podgrzanym do 160°C wosku parafinowym lub na 20 min. w roztworze produktu biobójczego.
- Wosk pozyskany z zakażonych rodzin przed jego ponownym zastosowaniem w pszczelarstwie powinien zostać poddany sterylizacji podczas procesu autoklawowania (121°C, 0,1 MPa przez 30 min.).
- Teren przed skażonymi ulami, po posypaniu lub polaniu produktem biobójczym należy przekopać na głębokość 30 cm.
- Ręce oraz ubrania ochronne odkaża się produktem biobójczym.

Sekcja Drób

Zakaźne zapalenie oskrzeli kur

Katarzyna Domańska-Blicharz

Zakład Chorób Drobiu

Krótką charakterystyka

Zakaźne zapalenie oskrzeli kur (IB) jest wysoce zaraźliwą chorobą kur wywoływaną przez wirus IB (IBV). Na powierzchni wirusa znajdują się równomiernie rozmieszczone wypustki/kolce utworzone przez białko S, które nadają wirusowi charakterystyczny wygląd korony w obrazie mikroskopu elektronowego – stąd nazwa koronawirus. Wirus, taksonomicznie przynależny do *Coronaviridae*, podobnie jak inni przedstawiciele tej rodziny, np. wirus ciężkiego ostrego zespołu oddechowego typu 2 (SARS-CoV-2) jest niezwykle zmienny i występuje w wielu, różnorodnych odmianach genetycznych, różniących się przede wszystkim budową struktury wypustek/kolca białka S. Ma to odzwierciedlenie w zróżnicowaniu właściwości antygenowych, tropizmu tkankowego, patogenności, a przez to w obrazie klinicznym samej choroby, która może przebiegać z objawami ze strony układu oddechowego (historycznie pierwsze objawy, stąd nazwa jednostki – zakaźne zapalenie oskrzeli), ale także układu wydalniczego (zapalenie nerek), rozrodczego (spadek produkcji jaj i gorsza jakość tych jaj) oraz pokarmowego (stany nieżytowe jelit). Wirus IB to pierwszy odkryty koronawirus na świecie, zidentyfikowany już w latach 30. ubiegłego stulecia. Odkrycia pierwszych ludzkich koronawirusów dokonano dopiero kilkadziesiąt lat później (lata 60.). Bardzo szybko, bo już w latach 50. XX wieku wprowadzono pierwsze szczepienia profilaktyczne stad kur przeciwko tej chorobie. Jednak pomimo wieloletnich (ponad 90 lat) badań nad IBV

i chorobą przez niego wywoływaną, mimo powszechnie stosowanych szczepień profilaktycznych, wciąż stanowi on w produkcji drobiarskiej bardzo poważny problem epizootyczny i ekonomiczny.

Epidemiologia

Chorobę, zapalenie oskrzeli po raz pierwszy opisano w 1930 roku w Północnej Dakocie w USA, natomiast w 1936 roku potwierdzono jej wirusową etiologię. Pierwszym poznany szczepem wirusa IB był Massachusetts (Mass) wyodrębniony w latach 40. Ten właśnie typ wirusa (Mass) był podstawą opracowanej pierwszej szczepionki wprowadzonej do użytku w latach 50. Jednak kilka lat później okazało się, że IBV nie jest jednorodny, ponieważ szczepienie kurcząt szczepionką Mass nie dawało ochrony krzyżowej przed zakażeniem szczepem Connecticut (Conn). Przez wiele lat uważano, że szczep Conn jest pierwszym wariantem IBV, jednak przeprowadzone przez zespół naukowców z USA badania wykazały, że już w latach 40. oprócz szczepów Mass w terenie krążyło wiele innych wariantów. Aktualnie w literaturze światowej opisano ponad 50 antygenowych lub genetycznych odmian wirusa IB, chociaż uważa się, że w terenie krąży ich dużo więcej. Część z nich ma duże znaczenie ekonomiczne z powodu patogenicznego działania, są również takie, które długo utrzymują się w populacji kur, łatwo je wykryć metodami biologii molekularnej, jednak wydaje się, że wywołują słabo wyrażone objawy kliniczne (np. wariant It02). Istnieją warianty, które występują na znacznym obszarze np. Mass (cały świat) czy 793B czy QX (Ameryka Płn. i Płd., Europa, Azja), są jednak takie, które mają znacznie ograniczony zasięg np. B1648 (kraje Beneluksu). Generalnie uważa się, że IBV występuje wszędzie tam, gdzie utrzymywane są kury. Przez lata sądzono, że jedynym gospodarzem wirusa IB jest tylko ten

gatunek ptaka. Jednak kolejne badania dowiodły, że wirus wywołuje chorobę również u innych ptaków grzebiących (*Galliformes*), np. u bażantów czy pawi, ponadto obecność wirusa identyfikowano u wielu różnych gatunków dzikich ptaków, niewiele jednak wiadomo czy fakt ten miał wpływ na ich status zdrowotny.

Wirus IB może zakażać kury każdej rasy, w każdym wieku i niezależnie od płci. Jednak od wieku zakażonego ptaka zależny jest przebieg choroby, wywołując mocniej wyrażone objawy kliniczne u ptaków młodszych, którym czasami towarzyszy podwyższona śmiertelność. Z wiekiem wrażliwość kur na zakażenie IBV maleje. Wirus głównie rozprzestrzenia się drogą poziomą przez układ oddechowy lub pokarmowy, przez kontakt bezpośredni ptaków zdrowych z chorymi lub pośredni za pośrednictwem zanieczyszczonej przez wydzieliny z układu oddechowego czy kałem z układu pokarmowego ściółki, wody, paszy, sprzętu czy odzieży obsługi. Pionowa transmisja zakażeń jest również możliwa, chociaż jej znaczenie jest dużo mniejsze.

Choroba IB znajduje się na liście chorób Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (WOAH). W Polsce od 3 grudnia 2013 roku, zgodnie z nowelizacją ustawy z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt i zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (Dz.U. z 2008 r. Nr 213, poz. 1342) ogłoszonej 9 listopada w Dzienniku Ustaw z 2013 r., poz. 1304, IB podlega obowiązkowi rejestracji.

Pierwsze podejrzenia IB w Polsce oparte były na obserwacjach klinicznych kur stad niosek komercyjnych, u których występowały objawy oddechowe nie dające się leczyć żadnymi ówczynie stosowanymi antybiotykami, co rodziło podejrzenie wirusowej etiologii schorzenia. Laboratoryjne potwierdzenie zakażeń IBV uzyskano pod koniec lat 60. XX wieku. Jednak prawdziwe ogniska choroby zaczęły pojawiać się w połowie

lat osiemdziesiątych i na początku dotyczyły one stad niosek, u których obserwowano objawy ze strony układu oddechowego oraz spadek produkcji jaj i pogorszenie ich jakości. Problem był na tyle poważny, że polskie władze weterynaryjne zezwoliły na wprowadzenie pierwszych szczepionek przeciwko IB, ale tylko w celu immunizacji komercyjnych stad niosek. Zawierały one szczepy IBV typu Mass. Wprowadzenie tych szczepień zdecydowanie poprawiło zdrowotność w stadach kur niosek, jednak kilka lat później, pod koniec lat osiemdziesiątych, podobne objawy kliniczne tj. problemy oddechowe i towarzysząca im wysoka śmiertelność pojawiły się w stadach kurcząt brojlerów, dlatego rozpoczęto również szczepienia tego typu użytkowego kur. Wprowadzenie szczepionek opartych na szczepach Mass znacznie zmniejszyło straty ekonomiczne spowodowane przez IB. Ten stan kontroli choroby trwał około 10 lat, do roku 1997, kiedy pojawiło się IB o odmiennym przebiegu, powodującym uszkodzenie nerek, a chore ptaki pochodziły ze stad zarówno szczepionych (szczepionki typu Mass), jak i nieszczepionych. Szczepy z tamtego okresu należały do typu 793B. Straty ekonomiczne wywoływane pod koniec lat 90. w Polsce przez nefropatogenne szczepy IBV były tak dotkliwe, że zdecydowano o wprowadzeniu szczepionki homologicznej. Po raz pierwszy szczepionka typu 793B została wprowadzona na teren Polski w 1998 roku i znacznie zredukowała straty wynikające z tej formy choroby. Kolejna fala epidemii IB w Polsce spowodowana była przez szczepy IBV typu QX, które pojawiły się na początku nowego tysiąclecia (2004). Pierwsza szczepionka oparta na szczepie QX została wprowadzona na teren Polski w 2013 roku. Pod koniec 2015 roku, po raz pierwszy w Polsce, zdiagnozowano przypadki IB wywołane przez bliskowschodni wariant wirusa, tzw. Var2. Co ciekawe, szczepy Var2 po raz pierwszy zidentyfikowane zostały w Izraelu w 1998 roku i przez ponad 20 lat występowały lokalnie, głównie

w krajach Bliskiego Wschodu. W kolejnych miesiącach ilość wykrywanych w Polsce zakażeń szczepami IBV Var2 wzrastała, co doprowadziło w 2016 roku do zarejestrowania szczepionki homologicznej zawierającej szczep tego typu. W latach 2011-2013 wykrywano w stadach kur, szczególnie niosek, szczepy D1466 oraz tzw. IB80, wirusy szczególnie różniące się od wszystkich poprzednich. Aktualnie prowadzone badania molekularne polskich szczepów IBV, krążących w populacji kur w Polsce, wskazują, że w zdecydowanej większości należą one do typu 793B, zdecydowanie rzadziej do Var2, QX, D1466, IB80 oraz sporadycznie do D274. Przy czym wydaje się, że tak częste wykrywanie szczepów 793B ma związek z powszechnie stosowanymi szczepieniami preparatami zawierającymi szczepy tego typu. Jednak dokładne określenie czy jest to szczep szczepionkowy czy terenowy jest trudne metodycznie do wyjaśnienia.

Aspekt ekonomiczny zakażeń

Zakaźne zapalenie oskrzeli kur powoduje niezwykle duże straty ekonomiczne, zarówno w Polsce jak i na świecie. Według danych ze Światowego Atlasu Chorób Zwierząt (Analiza ilościowa globalnych danych na temat zdrowia zwierząt, 2006-2009) opublikowanych w listopadzie 2011 roku przez Światową Organizację Zdrowia Zwierząt (WOAH), w latach 2006-2009 największe straty, liczone w jednostkach żywego inwentarza (1 Livestock Unit = 1 LSU) wywołały trzy choroby: wysoce zjadliwa grypa ptaków (HPAI), bąblowica (echinokokoza) i zakaźne zapalenie oskrzeli kur. Jeśli jednak weźmiemy pod uwagę straty tylko w branży drobiarskiej wywoływane przez 10 najważniejszych chorób drobiu, to IB znajdowało się na drugim miejscu, pomiędzy wysoce, a nisko zjadliwą gripą ptaków. Straty te wynikają

z gorszych wyników produkcyjnych, głównie niższych przyrostów masy ciała, gorszego wykorzystania paszy (niższy współczynnik konwersji paszy), śmiertelności ptaków, która przy wystąpieniu czynników wiktających może dotyczyć nawet 70% stada, poniesionych kosztów immunoprofilaktyki (szczepienia przeciwko IB), leczenia (przy powikłaniach bakteryjnych pewne efekty przynoszą antybiotyki), ale także perturbacji w zakładach przetwórczych (niższa jakość tuszek).

Rozpoznanie/diagnostyka

Nasilenie objawów klinicznych u kur zależy od zjadliwości i dawki zakaźnej wirusa i drogi zakażenia, rasy, wieku, płci i kondycji ptaka, ale także warunków środowiskowych oraz zakażeń towarzyszących. U młodych kurcząt obserwuje się niespecyficzne objawy oddechowe takie jak duszność, rzęzenie, katar, niekiedy obrzęk zatok podoczodołowych i nadmierne łzawienie. Ptaki są osowiałe i mogą wykazywać objawy zaburzonej termoregulacji (skupianie się pod źródłem ciepła). Pobieranie paszy i przyrosty masy ciała ulegają znacznemu pogorszeniu. U kurcząt starszych, powyżej 6 tyg. życia objawy oddechowe są zwykle mniej wyrażone, a choroba może nawet pozostać niezauważona. U ptaków zakażonych szczepami nefropatogennymi, po krótkotrwałych, łagodnych objawach ze strony układu oddechowego, pojawia się uporczywa biegunka z białym, wodnistym kałem, co w konsekwencji prowadzi do silnego odwodnienia organizmu. Chore ptaki wykazują depresję, gromadzą się wokół źródła ciepła, tracą apetyt i chudną. Zakażenie szczepami enteropatogennymi powoduje typowe kliniczne objawy nieżytowe jelit czyli biegunkę, osowienie, a w konsekwencji zahamowanie przyrostów masy ciała i różnicowanie ptaków w stadzie. W stadach niosek obserwuje się spadek produkcji jaj i ich jakości, a objawy oddechowe mogą być słabiej wyrażone lub

nie ma ich wcale. Obniżenie produkcji jaj może mieć charakter nagły i sięgać nawet 70% całej produkcji, co zależy od zjadliwości wirusa, poziomu protekcji oraz czasu zakażenia IBV, a także zakażeń innymi patogenami. Jeśli do zakażenia niosek IBV dojdzie na początku okresu nieśności wówczas spadek produkcji jest bardziej drastyczny, liczba jaj o nieprawidłowym kształcie, pigmentacji czy mniejszej wadze jest większa, a czas produkcji takich jaj jest znacznie dłuższy w porównaniu do niosek, które uległy zakażeniu po 40. tygodniu życia. W przypadku zakażenia stad reprodukcyjnych IBV, zmniejsza się o kilka procent wskaźnik zapłodnienia i wylęgowość pozyskiwanych jaj.

Ze względu na powszechność stosowanych szczepień atenuowanymi szczepionkami żywymi, zawierającymi różne warianty IBV oraz mało charakterystyczne objawy kliniczne i zmiany anatomopatologiczne, diagnostyka zakaźnego zapalenia oskrzeli jest niezwykle trudna. Należy przy tym podkreślić, że narzędzia diagnostyczne powinny umożliwić wykrycie wirusa, który jest przyczyną obserwowanych problemów w terenie ale także, a może przede wszystkim, określić jego typ/wariant tak, aby móc wprowadzić odpowiedni program szczepienia gwarantujący jak najlepszą ochronę przeciwko stratom po następnym wstawieniu kurcząt na fermę. Wybór najlepszego testu oraz interpretacja otrzymanych wyników może być kłopotliwa. Należy podkreślić, że prawidłowe rozpoznanie choroby wymaga regularnego prowadzenia zarówno badań serologicznych jak i wirusologicznych (molekularnych). Monitorowany w badaniach serologicznych (testy ELISA) poziom przeciwciał umożliwia ocenę, czy aplikowane na fermie szczepienia są wykonywane prawidłowo, a w połączeniu z badaniami wirusologicznymi daje dodatkowo wgląd czy

szczepienie daje także protekcję w odniesieniu do krążących w kurniku szczepów terenowych. Należy tu podkreślić, że o ile detekcja IBV metodami molekularnymi nie jest problemem, to niestety identyfikacja typu wykrytego wirusa już tak. Jest to konsekwencja dużego zróżnicowania IBV i brak uniwersalnych starterów, które można by zastosować dla wszystkich IBV. Laboratoria diagnostyczne stosują różne metody, ukierunkowane na wykrywanie różnych regionów genu białka S, a otrzymane wyniki badania tej samej próbki mogą się diametralnie różnić. Możliwe jest dwojakié podejście: amplifikacja dłuższego fragmentu genu białka S i jego sekwencjonowanie i na tej podstawie określenie typu wirusa; w drugim podejściu diagnostycznym możliwe jest stosowanie typowo-specyficznych starterów/sond ukierunkowanych na wykrywanie poszczególnych typów IBV. Ze względu na duże zróżnicowanie genu S pomiędzy poszczególnymi wirusami IB, zarówno jedno jak i drugie podejście diagnostyczne ma swoje zalety i wady.

Próbki do badań

Przy pobieraniu próbek do badań należy uwzględnić wielkość stada, stosowane szczepienia oraz ich termin, a także występowanie zakażeń IBV w terenie. Do badań serologicznych należy pobrać próbki krwi na skrzep celem uzyskania surowicy od co najmniej 20 ptaków. W przypadku badań molekularnych standardowy zestaw próbek obejmuje wymazy z jamy dziobowo-gardłowej i kloaki od co najmniej 10 osobników z objawami choroby lub/oraz narządy od co najmniej 5 ptaków chorych/padłych. Preferowane narządy powinny reprezentować układ oddechowy (tchawica + płuca), wydalniczy (nerki), pokarmowy (jelita), a w przypadku, gdy problem dotyczy kur niosek – układ rozrodczy (jajowód). Transport próbek do laboratorium powinien odbyć się w schłodzeniu (ok. 4°C) i jak najszybciej od

ich pobrania. Możliwe jest także użycie specjalnie dedykowanych wymazówek z podłożem stabilizującym materiał genetyczny wirusa lub tzw. kart FTA. Transport tak pobranych próbek może odbywać się w temperaturze otoczenia.

Leczenie

Nie ma metod ukierunkowanego leczenia zakaźnego zapalenia oskrzeli kur. Podawanie antybiotyków przez trzy do pięciu dni może pomóc w zwalczaniu wtórnych zakażeń bakteryjnych. W przypadku kurcząt brojlerów pomocne jest podniesienie temperatury pomieszczenia o kilka stopni do czasu ustąpienia objawów.

Profilaktyka

Zapobieganie zakażeniom IBV opiera się głównie na ścisłym przestrzeganiu właściwej higieny produkcji, odpowiedniej pielęgnacji, odchowcie ptaków w jednym wieku oraz stosowaniu szczepień profilaktycznych. Na rynku dostępnych jest wiele swoistych szczepionek, w tym żywe atenuowane oraz inaktywowane. Pomimo, iż pierwsze szczepienia zostały wprowadzone wiele lat temu, skuteczność i efektywność szczepień wciąż budzi wiele problemów. Główną przyczyną tej sytuacji jest duża zmienność wirusa. Niestety uważa się, że szybkiej ewolucji wirusów IB dodatkowo sprzyja stosowanie masowych szczepień. W ten sposób wirusy „uciekają” przed układem immunologicznym indukowanym przez te szczepienia. Z całą pewnością stosowanie szczepień bardzo utrudnia prawidłową diagnostykę IBV.

Na rynku polskim zarejestrowanych jest 27 szczepionek żywych i 10 inaktywowanych (stan na kwiecień 2022). Szczepionki żywe opierają się na szczepie typu Mass, 793B, QX, Var2 oraz jedyna dostępna szczepionka dwuwalentna oparta jest na szczepie typu Mass oraz D274. Szczepionki żywe podawane są metodą *in ovo* w 18. dniu inkubacji zarodków kurzych lub od 1. dnia życia w wodzie do picia, dospojówkowo lub w formie aerozolu. Natomiast szczepionki inaktywowane podaje się w formie iniekcji domięśniowych lub podskórnych ptakom stad niosek towarowych lub reprodukcyjnych, między 16. a 18. tygodniem życia ptaków, po wcześniejszym, najczęściej trzykrotnym, podaniu szczepionek żywych. Przy opracowaniu optymalnego programu szczepień powinno się uwzględnić aktualną sytuację epizootyczną w terenie oraz status immunologiczny ptaków. W Europie, w tym Polsce, zalecane jest naprzemienne stosowanie szczepionek opartych na szczepach typu Mass w połączeniu z D274, 793B, QX lub Var2. Taki układ szczepień daje szeroką ochronę krzyżową i zabezpiecza ptaki przed większością antygenowo odmiennych szczepów wirusa IB.

Szczepienia należy przeprowadzać w taki sposób, aby jak największa liczba ptaków otrzymała wymaganą dawkę. Ponieważ wirusy zakaźnego zapalenia oskrzeli są bardzo wrażliwe na czynniki fizykochemiczne, nieodpowiednie przechowywanie szczepionek może obniżyć efektywność szczepień. Dlatego niezwykle istotna jest dbałość o prawidłowe przechowywanie szczepionki, jej przygotowanie, stosowanie zawsze dawki rekomendowanej przez producenta oraz wybór właściwej drogi podania.

Aspekt zoonotyczny

Badania serologiczne przeprowadzone w latach 90. u pracowników obsługi ferm kurcząt brojlerów wykazały u nich obecność specyficznych przeciwciał, chociaż brak jest jakichkolwiek poszlak wskazujących na aktywne namnażanie się wirusa u ludzi. Wykazano także, że niektóre szczepy (np. Mass, Gray) mogą namnażać się w warunkach *in vitro*, w ludzkich liniach komórkowych.

Choroba Mareka

Wojciech Kozdruń
Zakład Chorób Drobiu

Krótką charakterystyka

Choroba Mareka jest wirusową i nowotworową chorobą drobiu, która do niedawna była stwierdzana wyłącznie u drobiu grzebiącego (kury, indyki i przepiórki japońskie). Jednak w ostatnich latach notowane są także przypadki u gęsi. Straty powodowane przez wirus choroby Mareka to przede wszystkim znacznie obniżone przyrosty wagowe, podwyższona liczba padnięć ptaków, spadek produkcji nieśnej, spadek ilości spożywanej paszy, ale też prawie 90% wskaźnik konfiskat tuszek drobiowych na ubojni z powodu postaci skórnej choroby Mareka.

Choroba Mareka po raz pierwszy została opisana w 1907 roku przez węgierskiego uczonego Profesora Josepha Mareka. Wobec jego dużych zasług w badaniach nad tą chorobą przyjęto jego nazwisko jako nazwę choroby. W Polsce po raz pierwszy chorobę Mareka stwierdziła Profesor Anna Cąkała w 1970 roku oraz Profesor Witold Golnik w 1972 roku.

Od końca 1973 roku weszła w życie instrukcja dotycząca wprowadzenia obowiązkowych szczepień, ale jedynie w stadach reprodukcyjnych kierunku mięsnego. Wprowadzenie szczepień profilaktycznych w znacznym stopniu ograniczyło występowanie choroby Mareka w warunkach terenowych. Jednak wzrost patogenności terenowych szczepów wirusa choroby Mareka doprowadził w latach 90. ubiegłego roku do ponownego znacznego wzrostu liczby klinicznych przypadków choroby.

Szczepy terenowe wirusa choroby Mareka o bardzo wysokiej patogenności zostały po raz pierwszy opisane na początku lat 90. ubiegłego

wieku. Szczepy te powodowały bardzo wysoką śmiertelność, nawet wśród ptaków szczepionych przeciwko chorobie Mareka, szczególnie przy obecności wtórnych zakażeń bakteryjnych i wirusowych.

Dużym „krokiem milowym” w badaniach nad wirusem choroby Mareka było wprowadzenie metod biologii molekularnej opartych głównie na reakcji amplifikacji materiału genetycznego wirusa (PCR –reakcja łańcuchowa polimerazy). Przy zastosowaniu PCR oraz innych metod biologii molekularnej wyjaśniono w znacznym stopniu mechanizm immunosupresji powodowanej przez wirus choroby Mareka.

Jak wiadomo, także na podstawie obserwacji terenowych, na przestrzeni kilkudziesięciu lat nie wprowadzono żadnych nowych szczepionek przeciwko chorobie Mareka. Wydaje się, że obecnie stosowane szczepionki nie są w stanie w pełni zabezpieczyć ptaków przed kliniczną formą choroby Mareka. Z całą pewnością można stwierdzić, że mamy do czynienia ze stałą ewolucją w genomie wirusa choroby Mareka.

Dodatkowo, jak wynika z danych finansowych z 2021 roku, straty finansowe producentów drobiu spowodowane zakażeniem wirusem choroby Mareka szacuje się na poziomie około 5,8 miliarda dolarów.

Charakterystyka czynnika etiologicznego choroby Mareka

Czynnikiem etiologicznym choroby Mareka jest wirus choroby Mareka (MDV – Marek’s disease virus) należący do rodziny *Herpesviridae* rodzaju *Marbivirus*. W większości przypadków MDV występuje w formie związanej z komórką. Jedynym wyjątkiem, kiedy MDV występuje w formie wolnej są folikuly piór oraz cząstki kurzu. Jest to ważne z punktu widzenia diagnostyki oraz patogenezy choroby (sposób rozprzestrzeniania się zakażenia MDV).

Według taksonomii zaproponowanej przez Międzynarodowy Komitet Taksonomiczny podział szczepów MDV na 3 serotypy przedstawia się następująco:

- *Gallid herpesvirus* (serotyp 1)
- *Gallid herpesvirus 3* (serotyp 2)
- *Meleagrid herpesvirus 1* (serotyp 3).

W tym miejscu należy też przedstawić klasyfikacje patotypów MDV w obrębie serotypu 1:

- klasyczne szczepy o umiarkowanej wirulencji (mMDV – mild MDV)
- szczepy wirulentne (vMDV – virulent MDV)
- szczepy o bardzo wysokiej wirulencji (vvMDV – very virulent MDV)
- szczepy o bardzo wysokiej wirulencji plus (vv+ – very virulent plus MDV).

Patotypizacja szczepów MDV w obrębie serotypu 1 jest bardzo ważna z punktu widzenia immunoprofilaktyki, ale przede wszystkim jest używana w diagnostyce choroby Mareka, głównie metodami biologii molekularnej.

Patogeneza

Do zakażenia ptaków dochodzi poprzez układ oddechowy (cząstki wirusa MD obecne w kurzu kurnika). Po kilku dniach od zakażenia wirus MD jest już obecny w narządach limfatycznych takich jak: grasica i bursa Fabrycjusza. Jest to okres nazywany fazą lityczną zakażenia. Następnie po kilku tygodniach ma miejsce faza nowotworowa zakażenia. Objawia się ona obecnością zmian nowotworowych w narządach wewnętrznych. Kompletne cząstki wirusa pojawiają się w brodawkach piór i są uwalniane do środowiska. Cząstki te są źródłem zakażenia dla zdrowych ptaków.

Należy podkreślić również rolę przeciwciał matczynych. Wykazano, że u ptaków z przeciwciałami matczynymi obecność zmian chorobowych w narządach wewnętrznych jest zdecydowanie na niższym poziomie niż u ptaków bez tych przeciwciał. U ptaków bez przeciwciał matczynych zmiany chorobowe dotyczą nawet mózgu. Szczególnie może to być widoczne u ptaków powyżej 14 tygodnia życia.

Cechą charakterystyczną zakażenia MDV jest wiremia, która trwa po zakażeniu przez całe życie ptaków. Zjawisko wiremii jest wykorzystywane do wykrywania obecności materiału genetycznego MDV właśnie we krwi chorych ptaków.

Udowodniono, że możliwe są zakażenia innymi szczepami wirusa choroby Mareka. Wobec tego przebieg kliniczny choroby zależy od patotypu serotypu 1 szczepu MDV, który pierwszy zakazi ptaka.

Należy też podkreślić, że MDV jest wirusem o bardzo silnym działaniu immunosupresyjnym. Ściółka, kurz i pył w pomieszczeniach dla drobiu zawierające kompletne cząstki wirusa zawarte w brodawkach piór są w pełni zakaźne nawet do 8 miesięcy w temperaturze 20-25°C. Wraz ze spadkiem temperatury przeżywalność MDV wzrasta. W temperaturze 4°C MDV jest zakaźny nawet do 10 lat, a w temperaturze ciekłego azotu (-196°C) przez kilkadziesiąt lat.

Objawy kliniczne i zmiany anatomopatologiczne w chorobie Mareka

W postaci nadostrej choroba Mareka przebiega w sposób gwałtowny, praktycznie bez żadnych objawów klinicznych. Najczęściej chorują ptaki w wieku do 4 tygodnia, a śmiertelność sięga nawet do 80% w stadzie i jest spowodowana wystąpieniem wtórnych zakażeń bakteryjnych.

W postaci ostrej okres inkubacji wynosi 2-3 tygodnie, a śmiertelność wynosi do 70% ptaków. Utrzymuje się ona nawet przez kilka tygodni, a następnie notowane są pojedyncze padnięcia ptaków nawet przez kilka miesięcy.

Na podstawie obserwacji własnych u części ptaków mogą nie występować żadne objawy chorobowe. Z drugiej strony mogą pojawić się objawy ze strony układu nerwowego w postaci porażenia nóg, skrzydeł i szyi. Pojawia się charakterystyczna postawa tzw.: „szpagatu”, w której ptaki leżą z jedną kończyną wyciągniętą do przodu. Ponadto, ptaki pobierają mniej wody i paszy, widoczna jest bladeść grzebieni i dzwonek. W tej postaci mogą być obserwowane objawy kliniczne i zmiany anatomopatologiczne związane ze zjawiskiem immunosupresji i należy stwierdzić, że jest to bardzo często pomijany aspekt przez producentów i lekarzy weterynarii.

W postaci klasycznej okres inkubacji jest znacznie dłuższy niż w postaci ostrej, a śmiertelność wynosi od 10 do 15%. Padnięcia wśród ptaków notuje się od kilku tygodni do kilku miesięcy. Najczęściej w tej postaci chorują kury nioski na początku okresu nieśności, a choroba rozpoczyna się od pojawienia się u ptaków objawów ze strony układu nerwowego (paraliż skrzydeł i nóg oraz kręć szyi, postawa szpagatu). Może pojawić się biegunka i wychudzenie, jak również objawy ze strony układu oddechowego jako objaw wtórnych zakażeń bakteryjnych. Bardzo rzadko notowane są zmiany w gałce ocznej w postaci zmiany kształtu źrenicy, plamistości lub szarości tęczówki oraz utraty zdolności akomodacji oka. Jak wynika z obserwacji własnych inne postaci kliniczne jak np.: postać nerwowa czy paraliż przejściowy praktycznie nie są notowane w terenie.

Zmiany anatomopatologiczne w narządach wewnętrznych można zaliczyć do 3 grup: zmian w narządach wewnętrznych, zmian skórnych

(opisanych poniżej) oraz zmian w nerwach obwodowych (około 10% wszystkich obserwowanych zmian anatomopatologicznych).

Zmiany w nerwach mogą występować w formie zmian jedno- lub obustronnych. Zmienione nerwy obwodowe mogą być 2-3 krotnie powiększone bez fizjologicznego „połysku” i poprzecznego prążkowania, o barwie szarej lub żółtej i z obecnością pasmowatych przekrwień.

Ogólnie można przyjąć, że obecnie w warunkach terenowych trudno jest rozdzielić poszczególne formy kliniczne choroby Mareka. Obniżeniu uległ także wiek ptaków u których stwierdza się zakażenie wirusem choroby Mareka a następnie wystąpienie klinicznej postaci tej choroby.

Może nie dużym, ale zauważalnym problemem jest występowanie u brojlerów postaci skórnej choroby Mareka. Choroba pojawia się u kurcząt brojlerów w 5-6 tygodniu życia. Na początku występują bezobjawowe padnięcia ptaków, a część ptaków bardzo szybko traci na masie ciała. Ptaki w stadzie są niewyrównane pod względem wagowym i pojawiają się objawy porażenne (nóg i szyi). Skóra po usunięciu upierzenia przypomina swoim wyglądem tzw. „gęsią skórę”. Notowane są duże przekrwienia oraz zgrubienia skóry, a brodawki piór są zmienione nowotworowo. Dlatego też postać skórna choroby Mareka u kurcząt brojlerów nazywana jest „białaczką skóry”. Z powodu nieestetycznego wyglądu tuszka drobiowa podlega konfiskacie, a procent konfiskat może sięgać nawet 90% tuszek.

W chorobie Mareka o przebiegu nienowotworowym występują zazwyczaj 3 formy: syndrom limfodegeneracyjny (wyłącznie u ptaków nieszczepionych, u których nie stwierdza się przeciwciał matczynych), paraliż przejściowy oraz *panophthalmitis* (inaczej zwana „szarym okiem”).

W ostatnim okresie zaobserwowano występowanie zmian nowotworowych u gęsi. Dotyczy to zarówno gęsi stad reprodukcyjnych, ale

też gąsiąt przeznaczonych na tucz. W przypadku gęsi stad reprodukcyjnych zmiany są notowane najczęściej w 2 lub 3 sezonie użytkowania i dotyczą głównie wątroby i śledziony. Natomiast u gąsiąt przeznaczonych na tucz zmiany obserwowane są przeważnie w wieku 6 do 10 tygodni. Cechą wspólną jest fakt, iż gęsi te były odchowywane w pomieszczeniach, gdzie wcześniej stwierdzono u innych ptaków kliniczną postać choroby Mareka.

Diagnostyka choroby Mareka

Diagnostyka choroby Mareka oparta jest na badaniu klinicznym, anatomopatologicznym, serologicznym (niewielkie znaczenie diagnostyczne), histopatologicznym oraz wirusologicznym ze szczególnym uwzględnieniem metod biologii molekularnej.

W przypadku podejrzenia wystąpienia choroby Mareka bardzo ważna jest diagnostyka różnicowa. Należy dodać, iż stwierdzenie np.: obecności materiału genetycznego MD nie świadczy jednocześnie o istnieniu choroby w stadzie. Analizie trzeba poddać obecność objawów klinicznych oraz zmian anatomopatologicznych.

Niezmiernie ważnym aspektem w diagnostyce choroby Mareka jest jakość próbki przesłanej do badań. Do badania wirusologicznego powinny być dostarczone żywe ptaki (5-10 ptaków ze stada) w średniej kondycji i wykazujące objawy kliniczne. Dodatkowo, do badań można dostarczyć od 20 do 25 próbek krwi, najlepiej surowicy. Zaleca się wcześniejszy kontakt z laboratorium celem ustalenia szczegółów dostarczenia próbek do badań.

Jeśli to możliwe, należy przeprowadzić bardzo dokładny wywiad z producentem lub lekarzem weterynarii zajmującym się daną fermą ptaków. Pozwala to prawidłowo ocenić sytuację w stadzie oraz wykonać badanie kliniczne i badanie anatomopatologiczne. Powinno pozyskać się informacje

odnośnie ewentualnej immunoprofilaktyki przeciwko chorobie Mareka u badanych ptaków.

Do badań zaleca się też dostarczyć pióra pobrane od ptaków ze szlaku barkowego lub wewnętrznej powierzchni uda. Pióra muszą być jednak zabezpieczone w taki sposób, aby nie wyschły.

W trakcie badania anatomopatologicznego oceniane są zmiany nowotworowe widoczne w narządach wewnętrznych. Następnie w trakcie tego badania pobierane są przeważnie (w miarę możliwości w sposób jałowy) wycinki wątroby, śledziony i innych chorobowo zmienionych narządów wewnętrznych. Pobierane są też wycinki narządów wewnętrznych oraz nerwów obwodowych do badań histopatologicznych. Zmiany w nerwach obwodowych stanowią podstawę do różnicowania choroby Mareka od białaczki ptasiej.

Z pozyskanych wycinków narządów wewnętrznych sporządza się homogenaty, które posłużą do przeprowadzenia badania wirusologicznego klasycznymi metodami (hodowle komórkowe i zarodki kurze) lub metodami biologii molekularnej. Jednak klasyczne metody wirusologiczne są czasochłonne i kosztochłonne, dlatego są stosowane rzadko.

Z metod biologii molekularnej najczęściej stosowana jest reakcja amplifikacji (PCR) wraz ze wszystkimi jej odmianami. Służy ona do różnicowania szczepów terenowych oraz szczepów szczepionkowych. Jako matrycę do PCR można stosować wyżej wymienione homogenaty z narządów wewnętrznych, krew, foliкуły piór, ale także kurz pobrany z pomieszczeń dla drobiu (tzw.: badania środowiska ptaków). Zaletą PCR jest wysoka czułość i specyficzność. PCR pozwala na różnicowanie szczepów terenowych należących do serotypu 1 oraz szczepu szczepionkowego HVT FC 126 należącego do serotypu 3 i szczepu szczepionkowego Rispens CVI 988

zaliczanego do serotypu 1. Wyniki PCR są bardzo pomocne w ustaleniu faktu, czy ptaki zostały zaszczepione przeciwko chorobie Mareka i czy jednocześnie doszło do zakażenia zjadliwym, terenowym szczepem MDV.

Pobrane od ptaków pióra są wykorzystywane w teście immunodyszki radialnej w żelu agarowym (RID), który służy do wykrywania antygenu wirusa choroby Mareka w folikulach piór.

Z kolei pozyskana od ptaków surowica służy do przeprowadzenia odczynu immunodyszki w żelu agarowym (AGID), w którym wykrywa się przeciwciała anty-MDV. W odczynie tym wykrywane są tylko przeciwciała klasy IgM, czyli przeciwciała powstające w pierwszym okresie po zakażeniu lub szczepieniu przeciwko chorobie Mareka.

W diagnostyce różnicowej należy uwzględnić następujące jednostki chorobowe:

Choroba Mareka	Inne jednostki chorobowe
	Białaczka limfocytarna
	Białaczka szpikowa
	Retikuloendotelioza
	Histomonozą
	Gruźlica
	Zakaźne zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego
	Niedobór witaminy B ₁
	Niedobór witaminy B ₂
	Rzekomy pomór drobiu
	Koligranulomatoza
	Botulizm (zatrucie jadem kiełbasianym)
	Mieszane zakażenia wirusami onkogennymi

Natomiast w diagnostyce różnicowej choroby Mareka oraz białaczki ptasiej należy uwzględnić następujące kryteria:

Kryteria	Choroba Mareka	Białaczka ptasia
Wiek	5-6 tyg. brojlery 12-24 tyg. kury	powyżej 16 tyg.
Śmiertelność	>5%	<5%
Objawy kliniczne	Najczęściej objawy porażenne	Objawy nieswoiste
Zmiany anatomopatologiczne	Zgrubienie nerwów Guzy w układzie rozrodczym Guzy w wątrobie, śledzionie i nerkach Atrofia bursy Fabrycjusza	Guzy w wątrobie, śledzionie i nerkach
Rodzaj komórki nowotworowej	Komórka T	Komórka B

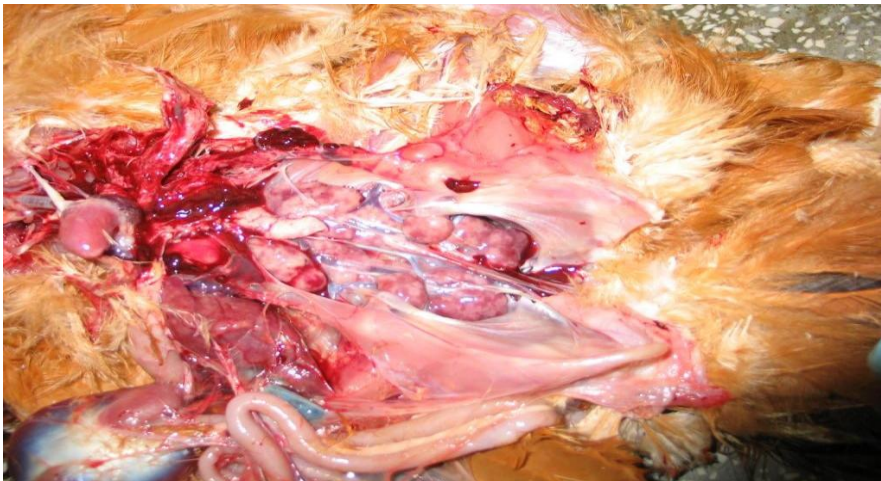
Profilaktyka choroby Mareka

Jedyną formą zapobiegania chorobie Mareka są szczepienia profilaktyczne, najczęściej jednodniowych piskląt, choć ostatnio coraz więcej szczepień wykonuje się metodą *in ovo*. Oczywiście nie możemy zapominać o przestrzeganiu zasad higieny (bioasekuracji) oraz wprowadzaniu do hodowli ras ptaków genetycznie niewrażliwych na chorobę Mareka.

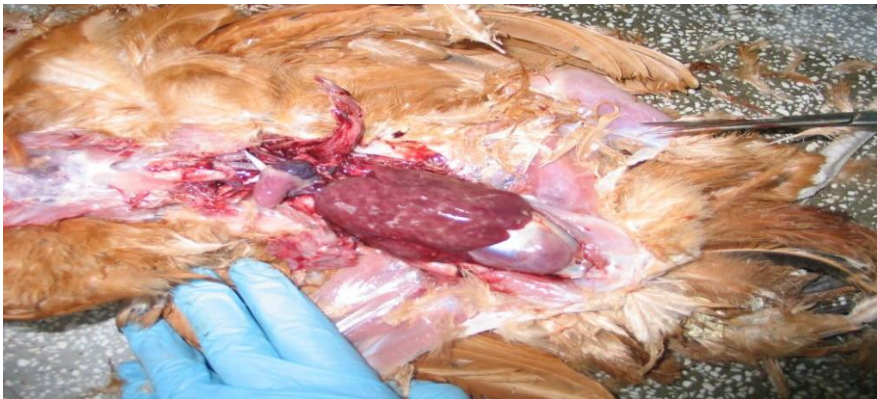
Bezwzględnie należy pamiętać, że szczepienie ptaków nie chroni ich przed zakażeniem zjadliwym, terenowym szczepem MDV tylko przed pojawieniem się objawów klinicznych i zmian anatomopatologicznych w narządach wewnętrznych. Dlatego też, pomimo wykonanego szczepienia, ptaki mogą być źródłem szczepu terenowego MDV a przez to dochodzi do powstawania szczepów MDV o coraz wyższej patogenności.

Najczęściej szczepi się jednodniowe pisklęta domięśniowo lub podskórnie. Inne stosowane metody szczepień są nieskuteczne. Szczepi się dawką wirusa nie mniejszą niż 3500 PFU, a rozpuszczoną szczepionkę powinno się zużyć maksymalnie w ciągu 2 godzin. Po tym okresie miano wirusa szczepionkowego znacząco spada. Pamiętać należy, iż bez zgody producenta szczepionki nie wolno łączyć szczepionki przeciwko MD z innymi szczepionkami lub podawać ją łącznie ze środkami przeciwdrobnoustrojowymi. Oczywiście samo przygotowanie szczepionki a następnie dalsze z nią postępowanie powinno być zgodne z zaleceniami producenta szczepionki.

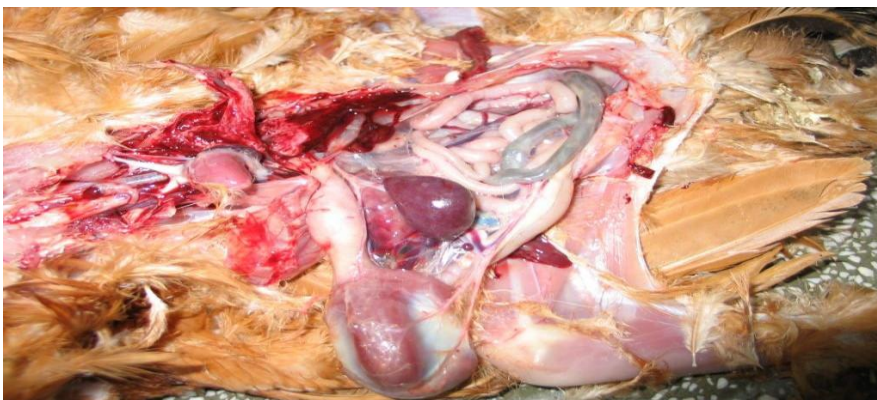
Przedstawione w niniejszym opracowaniu podstawowe informacje powinny być przydatne w przypadku podejrzenia lub stwierdzenia w stadzie choroby Mareka.



Zmiany anatomopatologiczne w nerkach (fot. własna)



Zmiany anatomopatologiczne w wątrobie (fot. własna)



Zmiany anatomopatologiczne w śledzionie (fot. własna)

Sekcja Bydło

Zakażenia mykoplazmowe u bydła – znaczenie i aspekt praktyczny zwalczania

Katarzyna Dudek, Ewelina Szacawa, Dariusz Bednarek
Zakład Chorób Bydła i Owiec

Krótką charakterystyka

Mykoplazmy należą do najmniejszych organizmów prokariotycznych, które charakteryzuje brak sztywnej ściany komórkowej oraz typowy wzrost kolonii na podłożach stałych w postaci „sadzonego jajka”. Spośród 13 gatunków mykoplazm zdiagnozowanych u bydła, *Mycoplasma bovis* uchodzi obecnie za najbardziej chorobotwórczą u tego gatunku zwierząt. Bakteria ta wywołuje zróżnicowane schorzenia u bydła, jednak do najczęściej diagnozowanych należą stany zapalne w obrębie płuc, stawów i gruczołu mlekowego. Bakteria ta występuje na całym świecie tam gdzie prowadzona jest hodowla bydła, włączając w to kraje takie jak Nowa Zelandia czy Finlandia, które przez długi czas uchodziły za wolne od zakażeń *M. bovis*. Bakteria ta posiada zdolność do „unikania” układu immunologicznego gospodarza, a zakażenia z jej udziałem mają przeważnie przewlekły charakter. Skuteczną kontrolę zakażeń na tle *M. bovis* utrudnia rosnąca w czasie lekooporność terenowych izolatów bakterii na substancje przeciwbakteryjne stosowane rutynowo w leczeniu weterynaryjnym, a także brak komercyjnej szczepionki do profilaktyki tych zakażeń na rynku europejskim.

Epidemiologia

M. bovis została po raz pierwszy wyizolowana w 1961 roku w USA od krowy, u której stwierdzono zapalenie gruczołu mlekowego (*mastitis*).

Następnie zakażenia tą bakterią rozprzestrzeniły się na wszystkie kontynenty, na których hodowane jest bydło – w latach 70. była notowana m.in. w Izraelu, Australii, Wielkiej Brytanii i wielu krajach europejskich. Obecnie wykrywana jest również w Finlandii, która była krajem wolnym od *M. bovis* do roku 2012, do czasu, gdy tę bakterię wykryto w płucach cielęcia. W roku 2017 wykryto *M. bovis* w stadach bydła mlecznego w Nowej Zelandii. W kraju, w którym hodowla bydła stanowi dużą część gospodarki, od czasu pierwszej izolacji do połowy roku 2020 infekcje tym drobnoustrojem wykryto już w ponad 1800 fermach, co spowodowało wielomilionowe straty ekonomiczne. Kolejnym krajem, który dotknęły problemy spowodowane zakażeniami *M. bovis* jest Estonia. Wyniki badań w stadach bydła mlecznego w tym kraju potwierdziły obecność tego patogenu w klinicznych przypadkach *mastitis*, w mleku, a nawet w sianie. Problem zakażeń *M. bovis* w przypadkach *mastitis* zaobserwowano również w Belgii. Z kolei dane z Wielkiej Brytanii potwierdziły, że jest to problem utrzymujący się od wielu lat. Najczęściej przypadki zapaleń płuc stwierdzane są u cieląt w okresie po odsadzeniu, a najrzadziej u nowonarodzonych osobników. Analiza sezonowości infekcji wykazała, że największy odsetek zapaleń płuc na tle *M. bovis* stwierdzano pomiędzy październikiem a marcem, mniej w okresie od kwietnia do czerwca, a najrzadziej mykoplazmowe zapalenia płuc diagnozowano w miesiącach letnich, tj. od lipca do września. Powyższe dane są spójne z wynikami uzyskanymi w naszym kraju. Wyniki badań serologicznych wykonywanych na przestrzeni lat wskazują, że przeciwciała anti-*M. bovis* są obecne w stadach bydła w Polsce. Na szeroką skalę monitoring występowania przeciwciał anti-*M. bovis* przeprowadzono w latach 2007-2010. Analizie poddano zwierzęta klinicznie zdrowe, krowy mleczne z objawami ze strony układu oddechowego i cielęta z objawami syndromu oddechowego bydła (bovine respiratory

disease, BRD). Następnie w 2011 roku badania były kontynuowane i dotyczyły jedynie przypadków BRD. Najnowsze badania w tym zakresie obejmowały 73 stada bydła podejrzanego o zakażenie, pochodzące z terenu całego kraju. Wykazały one, że w 30% stad wykryto obecność specyficznych przeciwciał anty-*M. bovis*. Aktualnie prowadzone badania potwierdzają, że *M. bovis* jest wciąż izolowana w stadach bydła w Polsce, i najczęściej występuje w koinfekcji z innymi gatunkami mykoplazm.

Aspekt ekonomiczny zakażeń

Zakażenia na tle *M. bovis* odpowiedzialne są za znaczące straty w hodowli bydła na całym świecie, zarówno z chorobotwórczego, jak i ekonomicznego punktu widzenia. Zakażenia te występować mogą u wszystkich grup wiekowych i użytkowych bydła, z kolei siewstwo tej bakterii przez zakażone zwierzęta do środowiska utrzymywać się może przez wiele tygodni, a nawet miesięcy. Zakażenia na tle *M. bovis* mogą szerzyć się drogą bezpośrednią, np. z matki na potomstwo (zakażenie wertykalne), co może odbywać się drogą śródmaciczną lub też wraz z siałą czy mlekiem pochodzącym od zakażonych krów. Innym przykładem bezpośredniej drogi zakażenia tą bakterią jest droga horyzontalna za pośrednictwem nasienia, co ma szczególne znaczenie także z punktu widzenia sztucznej inseminacji krów. Z kolei do pośrednich dróg szerzenia się zakażeń *M. bovis* należą: droga aerogenna (kropelkowa), droga pokarmowa przez spożywanie pokarmu zanieczyszczonego wydaliniami i wydzielinami zakażonych zwierząt, a także droga bezpośredniego kontaktu między zwierzętami, tzw. kontakt „nose-to-nose” lub z personelem czy też wyposażeniem na fermie. Na szczególną uwagę zasługuje również fakt, że *M. bovis* rozprzestrzenia się w organizmie gospodarza drogą hematogenną, co bardzo często skutkuje występowaniem

zmian patologicznych w obrębie różnych narządów i tkanek u tego samego osobnika. Ważnym rezerwuarem bakterii są również bezobjawowi nosiciele.

Rozpoznanie/diagnostyka

Zakażenia na tle *M. bovis* przebiegać mogą w postaci zmian chorobowych w obrębie różnych narządów i tkanek bydła, najczęściej jednak diagnozowane są stany zapalne w obrębie płuc i oskrzeli, stawów, gruczołu mlekowego, rogówki i spojówki, ucha środkowego, a nawet opon mózgowo-rdzeniowych i wsierdzia. *M. bovis* stanowić może także czynnik etiologiczny innych chorób bydła, ważnych z punktu widzenia okresu przejściowego u krów, takich jak ronienia, przedwczesne porody, upadki cieląt w wieku neonatalnym, zmiany patologiczne u płodu, zapalenie macicy, jajowodu, czy też zatrzymanie łożyska. Z uwagi na hematogenną drogę wewnątrzustrojowej transmisji zarazka, częstym następstwem stanów zapalnych w obrębie płuc, gruczołu mlekowego lub rogówki i spojówki może być zapalenie stawów u tego samego osobnika. Nierzadko spotyka się również występowanie zapaleń płuc jako skutek procesu chorobowego w obrębie ucha środkowego. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że *M. bovis* stanowi ważny czynnik etiologiczny BRD obok innych drobnoustrojów chorobotwórczych dla tego gatunku zwierząt, takich jak bakterie z rodziny *Pasteurellaceae*, czy też wirusy układu oddechowego bydła.

Objawy kliniczne zakażenia mykoplazmowego u bydła nie są specyficzne, dlatego też badania laboratoryjne są niezbędne do właściwego rozpoznania zakażenia. Do badań serologicznych stosowane są zestawy ELISA, służące do wykrywania przeciwciał anti-*M. bovis* w surowicy krwi. Należy pamiętać, że badania serologiczne powinno się wykonywać dopiero około 10-14 dni po zakażeniu, ponieważ produkcja specyficznych przeciwciał

w odpowiedzi na zakażenie *M. bovis* rozpoczyna się dopiero w tym czasie. Badanie serologiczne służy najczęściej do wstępnej oceny stopnia rozprzestrzeniania się zakażeń *M. bovis* w populacji bydła. W przypadku podejrzenia zakażenia, w celu kompleksowej diagnostyki zakażeń, powinno się dodatkowo wykonać badania z zastosowaniem technik mikrobiologicznych lub biologii molekularnej. Za pomocą tradycyjnej hodowli bakteryjnej z użyciem podłoży namnażających i różnicujących, specyficznych dla mykoplazm, można zidentyfikować i wyizolować bakterie z rodzaju *Mycoplasma* np. w wymazach z jamy nosowo-gardłowej, worka spojówkowego lub wycinkach tkanki płucnej. Pomimo, że metoda ta jest „złotym standardem” w diagnostyce mykoplazm, ma ona pewne ograniczenia. Czas wzrostu tych bakterii na podłożach hodowlanych jest długi, dodatkowo mają one specyficzne wymagania wzrostowe. W celu identyfikacji antygeny *M. bovis* można zastosować bezpośredni test ELISA, który jest połączony ze wstępnym, 3-dniowym namnażaniem drobnoustroju na podłożu mikrobiologicznym. Ten rodzaj badania pozwala na identyfikację antygeny *M. bovis* np. w wymazach z jamy nosowo-gardłowej, płynie stawowym i wycinkach tkanki płucnej, co świadczy o aktywnym zakażeniu. Identyfikacja *M. bovis* możliwa jest również za pomocą technik biologii molekularnej (PCR, real-time PCR). Najczęściej wykonuje się badania takiego materiału jak wymazy z jamy nosowo-gardłowej, czy wycinki tkanki płucnej. Badania PCR służą do wykrywania specyficznych sekwencji genowych drobnoustroju, przy czym należy pamiętać, że wynik dodatni wskazuje jedynie na obecność materiału genetycznego i nie zawsze świadczy o aktywnym zakażeniu.

Próbki do badań

W zależności od zastosowanej metody diagnostycznej w kierunku wykrywania zakażeń na tle *M. bovis* próbkę do badań laboratoryjnych stanowić może m.in. surowica krwi lub krew pobrana na skrzep, wymazy z jamy nosowo-gardłowej, płyn stawowy, płuca lub wycinki płuc. Transport próbek powinien być przeprowadzony niezwłocznie po pobraniu, zwłaszcza w przypadku próbek krwi pełnej, płuc lub płynu stawowego i przebiegać w temperaturze 2-8°C. Jeśli czas transportu jest dłuższy niż 48 godzin, próbki surowicy i wymazów z jamy nosowo-gardłowej powinny być przechowywane w temperaturze -20°C. Jeśli transport próbek płuc nie jest możliwy niezwłocznie po pobraniu, należy je przechować w temperaturze -20°C. W przypadku wymazów z jamy nosowo-gardłowej zaleca się stosowanie wymazówek zaopatrzonych w pojemnik z płynnym podłożem transportowym przeznaczonym dla mykoplazm, co w zdecydowany sposób zwiększa możliwości diagnostyczne. Składniki zawarte w tym podłożu nie tylko umożliwiają dłuższe przechowanie pobranego materiału, ale również ograniczają wzrost innych bakterii i grzybów nierzadko kontaminujących próbkę.

Leczenie

M. bovis wykazuje naturalną oporność na antybiotyki β -laktamowe, w tym penicyliny i cefalosporyny, których mechanizm działania opiera się na hamowaniu syntezy peptydoglikanu ściany komórkowej, której *M. bovis* nie posiada. Ponadto, obserwowany jest rosnący w czasie spadek wrażliwości terenowych izolatów *M. bovis* zwłaszcza w odniesieniu do stosowanych rutynowo w lecznictwie weterynaryjnym substancji przeciwbakteryjnych,

w tym antybiotyków z grupy tetracyklin i makrolidów, a nawet fluorochinolonów. Biorąc powyższe pod uwagę terapia zakażeń na tle *M. bovis* nastrocza szczególne trudności. Dodatkowo komplikuje ten stan generalnie przewlekły charakter infekcji z udziałem tej bakterii, a także zdolność do wewnątrzkomórkowej lokalizacji *M. bovis*, co zdecydowanie utrudnia jej eliminację z organizmu gospodarza.

Profilaktyka

Skuteczne zwalczanie zakażeń z udziałem *M. bovis* dodatkowo komplikuje brak na rynku europejskim komercyjnych szczepionek przeciwko infekcjom tym drobnoustrojem. Z kolei preparaty tego typu dostępne w USA charakteryzuje niewystarczająca skuteczność. Jak dotychczas w USA i w Wielkiej Brytanii stosowane są szczepionki autogeniczne. W Zakładzie Chorób Bydła i Owiec PIWet-PIB w Puławach opracowano pierwszą i jak dotychczas jedyną w Polsce eksperymentalną szczepionkę przeciwko zakażeniom *M. bovis* u bydła, która powstała na bazie krajowego szczepu *M. bovis* oraz unikalnemu na skalę światową połączeniu dwóch adiuwantów, tj. saponiny i Emulsigenu[®]. Badania *in vivo* z wykorzystaniem tej szczepionki wykazały wyraźne zmniejszenie intensywności objawów klinicznych eksperymentalnego zakażenia *M. bovis* oraz znaczne ograniczenie rozwoju charakterystycznych dla tego drobnoustroju zmian anatomicznych i histopatologicznych w obrębie płuc. W przypadku komercjalizacji opracowanej już eksperymentalnej formy szczepionki istnieje szansa na wdrożenie profilaktyki swoistej zakażeń z udziałem *M. bovis*, co z pewnością przyczyni się do ograniczenia strat z tego tytułu w krajowej populacji bydła.

Z uwagi na brak narzędzi do profilaktyki swoistej zakażeń *M. bovis* w naszym kraju ważne jest wdrożenie innych form zapobiegania

wprowadzenia bakterii do stada i następowego rozprzestrzenienia się infekcji między osobnikami w stadzie. Podobnie jak w przypadku większości krajów europejskich, także w Polsce nie opracowany został program kontrolny do zwalczania zakażeń z udziałem *M. bovis*, ponieważ schorzenia wywoływane przez tą bakterię nie podlegają regulacji prawnej. Z metod stosowanych w innych krajach zalecane jest na przykład okresowe badanie przesiewowe wybranych osobników w stadzie z zastosowaniem metod serologicznych, a także ograniczenie importu bydła z krajów z wysoką seroprevalencją zakażeń na tle *M. bovis*. Zdecydowanym przykładem postępowania w celu ograniczeniu rozprzestrzeniania się infekcji w stadzie jest obróbka termiczna siary lub mleka przeznaczonego do skarmiania cieląt. W tym przypadku należy jednak liczyć się z ryzykiem obniżenia koncentracji całkowitej puli immunoglobulin zawartych w siarze, jednak korzyści płynące z ograniczenia siewstwa tą drogą znacznie przewyższają wspomniane straty. Pewnym rozwiązaniem zmierzającym do wykrycia subklinicznych przypadków zakażeń na tle *M. bovis* jest badanie mleka pochodzącego od krów nowo wprowadzonych do stada oraz od tych zwierząt w stadzie, u których zdiagnozowano podwyższoną liczbę komórek somatycznych w mleku. Nie należy zapominać również o stosowaniu na fermie środków dezynfekujących. Ostatnie doniesienia w tym zakresie wykazały wysoką skuteczność środków na bazie kwasu cytrynowego i podchlorynu sodu w redukcji żywotności tej bakterii. Z kolei preparaty na bazie jodu zdają się być najbardziej efektywne w odniesieniu do zachowania higieny doju. Biorąc pod uwagę zagadnienie sztucznej inseminacji należy mieć na uwadze, że mieszanina antybiotyków stosowana do zabezpieczenia nasienia przed jego zamrożeniem w celu dalszego przechowywania nie jest wystarczająco skuteczna w odniesieniu do *M. bovis*, co ułatwić może jej przeżycie w tych warunkach. Dlatego też zaleca

się badanie nasienia w kierunku obecności *M. bovis* w celu ograniczenia transmisji bakterii na krowy i dalszego szerzenia się choroby w stadzie.

Wirusowa biegunka bydła – choroba wielu barw

Mirostaw Polak

Zakład Wirusologii



Pomimo obecności objawu ze strony przewodu pokarmowego w nazwie wirusa, biegunka zazwyczaj nie jest najczęściej obserwowanym objawem klinicznym w zakażonym stadzie.

Krótką charakterystyka

Wirus biegunki bydła i choroby błon śluzowych (z ang. Bovine Viral Diarrhea-Mucosal Disease, BVD-MD) jest szeroko rozpowszechnionym patogenem bydła w Polsce oraz w krajach całego świata. Należy on do rodzaju Pestivirus, do którego należą m.in.: wirus biegunki bydła gatunku 1 (BVDV-1) i gatunku 2 (BVDV-2), wirus pomoru klasycznego świń (CSFV) oraz wirus choroby granicznej owiec (BDV). Powinowactwo do wielu narządów gospodarza sprawia, że obraz kliniczny zakażenia jest zróżnicowany i poza układem pokarmowym i oddechowym obejmuje układ rozrodczy, nerwowy oraz kostny.

Epidemiologia

Powszechne występowanie osobników serologicznie dodatnich na poziomie 80-90% wskazuje pośrednio na obecność wirusa BVD-MD w kraju. Jednakże, pomimo tak wysokiego odsetka osobników uodpornionych nie

przekłada się to na wysokość odsetka siewców wirusa (osobników zakażonych trwale). Ocenia się, że zaledwie 0,9-2% zbadanych w Polsce zwierząt jest nosicielami wirusa, co porównywalne jest z danymi światowymi (0,5-2%). Wirus BVD-MD wykazuje powinowactwo głównie do bydła, ale także do małych przeżuwaczy. W ostatnich latach opisano wiele przypadków naturalnych zakażeń przeżuwaczy wolnożyjących tym wirusem. Dlatego podejrzewa się, że zarówno dzikie, jak i małe przeżuwacze mogą stanowić rezerwuar wirusa i być dodatkowym źródłem zakażenia dla bydła domowego.

Aspekt ekonomiczny

Szerokie rozprzestrzenienie wirusa BVD-MD w populacji bydła prowadzi do dużych (choć rzadko identyfikowanych bezpośrednio) strat ekonomicznych w hodowli, powodowanych głównie problemami w rozrodzie. Oszacowano, że ogólne straty wywołane infekcją tym wirusem zawarte są w przedziale 10-40 mln dolarów na 1 mln wycieleń w zależności od zjadliwości szczepu wirusa. Padnięcia chorych zwierząt są rzadkie i najczęściej wynikają z powikłań bakteryjnych. Ponadto większość, bo aż 70% zakażeń, ma przebieg bezobjawowy, co utrudnia prawidłową ocenę zdrowotności stada jedynie w oparciu o objawy kliniczne.

Czynniki ryzyka

Choroba występuje powszechnie w stadach bydła mlecznego w Polsce, w których nie prowadzi się programów zwalczania. Do głównych czynników ryzyka należą:

1. Obecność w stadzie osobników zakażonych trwale wirusem (tzw. osobniki PI) – siewców wirusa przez całe życie.
2. Zakup zwierząt na remont stada bez zweryfikowanego statusu zdrowotnego (w oparciu o ujemne wyniki badań laboratoryjnych, dodatni wynik badania serologicznego – na obecność przeciwciał – jest pożądany, choć niesie ryzyko wprowadzenia wirusa do stada w przypadku serododatnich zwierząt ciężarnych). Do stada można wprowadzać jedynie osobniki ujemne w badaniu wirusologicznym.
3. Kontakt z innymi zwierzętami o nieznanym statusie zdrowotnym (wspólne pastwiska, kontakt przez ogrodzenie, udział w wystawach i targach na których nie są wymagane badania laboratoryjne, wizyty na fermie osób trzecich, brak stosowania podstawowych zasad bioasekuracji).
4. Transmisja wtórna przez zanieczyszczone wirusem nasienie, szczepionki, sprzęt do obsługi zwierząt (np. poidła, koryta paszowe, transfer zarodków, rękawice do badań rektalnych stosowane wielokrotnie, także kleszcze do korekcji racic), ektopasożyty (mucha stajenna, mucha końska).

Konsekwencje zakażenia/obraz kliniczny



Kluczowe znaczenie dla utrzymania i szerzenia się wirusa w stadzie ma ścieżka zaznaczona kolorem czerwonym, prowadząca do rodzenia się siewców wirusa w populacji własnej lub wraz z zakupem ciężarnych samic posiadających wysokie poziomy przeciwciał, wolnych od zakażenia, z zakażonymi płodami (tzw. jałówki/krowy trojańskie).

Rozpoznanie/diagnostyka

1. **Na poziomie gospodarstwa** – możliwa jedynie w oparciu o wywiad i obserwowane objawy kliniczne: zachorowania większej grupy zwierząt (głównie cieląt), często po wstawieniu zwierząt zakupionych z nieznanego źródła, z objawami ze strony układu pokarmowego lub oddechowego; utrzymujące się problemy w rozrodzie, charłaczce cielaki, cielaki rodzące się z wadami wrodzonymi.
2. **W laboratorium** – jedyna wiarygodna metoda oceny statusu zdrowotnego stada gdyż nawet do 70% zakażeń bydła wirusem BVD-MD przebiega bezobjawowo i hodowca zazwyczaj nie podejrzewa obecności wirusa w stadzie.

Próbki do badań: krew do badań serologicznych i wirusologicznych, wycinki skóry ucha – preferowane do badań wirusologicznych, wymazy z nosa i oka w przypadku zaobserwowania zmian, narządy mięszone od padłych zwierząt (przede wszystkich śledziona i nerka).

Dodatni wynik badania serologicznego (test ELISA) jest potwierdzeniem kontaktu z wirusem (obecność przeciwciał) lub szczepienia. Zwierzęta serologicznie dodatnie są pożądane w stadzie, gdyż istnieje dużo mniejsze ryzyko ponownego zakażenia, a w przypadku samic istotnie spada ryzyko urodzenia siewcy wirusa. Z powodu braku szczepionek markerowych i dedykowanych im testów, nie ma możliwości rozróżnienia, czy obecność przeciwciał u zwierząt jest wynikiem przechorowania czy szczepienia.

Dodatni wynik badania wirusologicznego (test PCR, ELISA antygenowa) – podejrzenie zakażenia trwałego lub zakażenia ostrego (przejściowego). Osobniki zakażone trwale należy jak najszybciej eliminować ze stada, gdyż wydalają duże ilości wirusa przez całe swoje życie we wszystkich wydalinach i wydzielinach. Nie można takich zwierząt wyleczyć.

Leczenie

Infekcje wirusowe leczy się jedynie objawowo zmniejszając nasilenie objawów klinicznych i wtórnych infekcji bakteryjnych. Ciężki przebieg zakażenia jest często wynikiem oddziaływania immunospresyjnego wirusa BVD-MD na układ odpornościowy gospodarza i rozwoju nadkażeń bakteryjnych i wirusowych. W przypadku ciężkiego przebiegu zakażenia z powodu wysokiej zjadliwości wirusa i przy braku infekcji bakteryjnych, stosowanie antybiotyków nie daje oczekiwanych efektów.

Profilaktyka

Stosowanie szczepień zabezpiecza zwierzęta przed ciężkimi zachorowaniami i ogranicza siewstwo wirusa do środowiska. Nie zawsze możliwe jest zabezpieczenie płodów przed zakażeniem trwałym. Wynika to z dużej zmienności wirusa i braku pokrewieństwa (homologii) między szczepami terenowymi i szczepionkowymi.

Zasady bioasekuracji są istotnym elementem zabezpieczenia stada przed zawleczeniem wirusa z zewnątrz, szczególnie w stadach wolnych od zakażenia i nie szczepionych profilaktycznie. W takich przypadkach dochodzi do zaniku przeciwciał i kontakt z wirusem może doprowadzić do zachorowań z objawami klinicznymi. Główne elementy bioasekuracji to: ograniczanie wizyt osób postronnych w gospodarstwie do niezbędnego minimum, stosowanie dedykowanych fartuchów ochronnych i obuwia profilaktycznego, unikanie kontaktu własnych zwierząt z osobnikami ze stad o nieznanym statusie zdrowotnym, zakup zwierząt na remont stada jedynie zbadanych wirusologicznie w kierunku zakażenia trwałego.

Skuteczność dezynfekcji związana jest z obecnością otoczki lipidowej, osłaniającej rdzeń wirusa BVD-MD, która warunkuje jego wrażliwość na działanie eteru, chloroformu, jodoforów, związków fenolowych, aldehydów oraz podchlorynów.

Postępowanie na poziomie stada

Wirusowa biegunka bydła nie jest chorobą zwalczaną z urzędu i jedynie podlega obowiązkowi rejestracji. Zwalczanie zakażenia polega na identyfikacji i szybkiej eliminacji ze stada siewców wirusa (osobniki zakażone

trwale). Usunięcie siewców musi być połączone z monitorowaniem nowonarodzonych cieląt w okresie 12 miesięcy od usunięcia ostatniego osobnika zakażonego, aby wyeliminować ryzyko pojawienia się nowych źródeł wirusa. Po etapie zwalczania konieczne jest monitorowanie stada na wypadek pojawienia się nowych siewców, wdrożenie zasad bioasekuracji oraz, w zależności od sytuacji epizootycznej stada, rozważenie szczepień profilaktycznych przynajmniej samic w cyklu rozrodczym.

Słowniczek pojęć

Krowa/jałówka trojańska – ciężarna samica posiadająca przeciwciała dla wirusa BVD jako wynik przechorowania (nie szczepienia), która może urodzić cielaka zakażonego trwale (dodatni wynik badania serologicznego samicy i ujemny wynik badania wirusologicznego).

Szczepienia – element profilaktyki swoistej stada, zabezpieczający zwierzęta zdrowe przed kliniczną postacią choroby, ograniczające siewstwo wirusa oraz zapobiegające rodzeniu się cieląt zakażonych trwale wirusem BVD. Odporność pojawia się po 3-4 tygodniach od szczepienia i utrzymuje się od 6 do 12 miesięcy. Na rynku dostępne są zarówno szczepionki inaktywowane, które stosuje się zazwyczaj co 6 miesięcy, jak i szczepionki żywe, podawane raz na rok.

Zakażenie ostre/przejściowe – zakażenie w okresie postnatalnym (po urodzeniu), najczęściej o łagodnym przebiegu (z wyjątkiem zakażenia szczepem zjadliwym, mogącym prowadzić nawet do upadków chorych zwierząt), kończące się produkcją przeciwciał i eliminacją wirusa z organizmu (tzw. serokonwersja). Niebezpieczne w przypadku buhajów, u których

pomimo braku wirusa we krwi może występować siewstwo wirusa z nasieniem do 6-9 miesięcy po zakażeniu.

Zakażenie trwałe (persistent infection-PI) – stan trwałej wiremii u osobnika zakażonego wirusem w trakcie pierwszego trymestru ciąży drogą łożyskową, po narodzeniu taki cielak, a następnie osobnik dorosły jest głównym źródłem wirusa w stadzie. Wydala on duże ilości wirusa we wszystkich wydalinach i wydzielinach. Nie ma możliwości wyleczenia takiego zwierzęcia. Jediną metodą postępowania jest eliminacja ze stada. Odsetek osobników PI w stadzie jest niski i wynosi 0,5-2%. Każde badanie wirusologiczne takiego osobnika (dzisiaj, za tydzień czy za rok) da wynik dodatni. Upadkowość osobników zakażonych trwale sięga 50% w pierwszych dwóch latach życia, wiele takich zwierząt wykazuje objawy syndromu słabego cielaka (charłactwo), ale zdarzają się osobniki rozwijające się normalnie, których nie uda się zidentyfikować klinicznie, bez badań laboratoryjnych. Nie ma możliwości rozwoju zakażenia trwałego u zdrowych zwierząt w okresie po wycieleniu. Każde zakażenie trwałe jest wynikiem zakażenia płodu w początkowym okresie ciąży (przed rozwojem układu immunologicznego płodu, czyli do 120 dnia ciąży). Każda samica zakażona trwale będzie rodzić cielaki także zakażone trwale wirusem BVD.



Jałówka zakażona trwale wirusem BVD-MD nie wykazywała cech zahamowania przyrostu masy ciała i nie odróżniała się wizualnie od pozostałych zwierząt z tej samej grupy wiekowej. Jej identyfikacja możliwa była dzięki badaniom laboratoryjnym całego stada, w którym nie obserwowano objawów klinicznych sugerujących obecność wirusa. Zwierzę to zostało skierowane na rzeź.

Zakażenia wtórne/Immunosupresja – efekt negatywnego wpływu wirusa na układ immunologiczny zakażonego zwierzęcia (immunosupresja) co prowadzi do wtórnych infekcji bakteryjnych i wirusowych, zwiększających odsetek zakażeń ciężkich i upadków zakażonych zwierząt.

Zmienność wirusa – istotny element ograniczający skuteczność szczepień i diagnozowania zakażeń wynikający z istnienia wielu wariantów genetycznych i antygenowych wirusa.

Pytania i odpowiedzi

1. Czy moje stado może być zakażone, a ja tego nie wiem?

Tak, nawet do 70% zakażeń bydła wirusem BVD może mieć przebieg bezobjawowy. Wymagane są badania laboratoryjne stada aby wykluczyć lub potwierdzić obecność wirusa.

2. Czy zakażenia wirusem BVD stanowią problem ekonomiczny w stadzie?

Ze względu na powinowactwo do wielu układów i narządów zwierząt zakażonych wirus BVD najczęściej atakuje układ rozrodczy, pokarmowy oraz oddechowy. Największe straty wynikają z negatywnego wpływu na układ rozrodczy w postaci problemów z zacieleniem, zamierania zarodków, wydłużenia okresu międzywycieleniowego, zwiększonej upadkowości u nowonarodzonych cieląt, rodzenia się osobników chęłaczycy, z wadami wrodzonymi. Starty na poziomie stada porównywalne są z kosztami zwalczania stanów zapalnych wymion (mastity). Zasadność eliminacji wirusa ze stada potwierdza stosowanie programów zwalczania zakażeń bydła tym patogenem w wielu krajach na całym świecie. Aktualnie 23 kraje posiadają programy zwalczania zakażeń bydła wirusem BVD (w tym 14 – programy dobrowolne). Pięć krajów ma status krajów wolnych od BVD, w 6 krajach choroba występuje sporadycznie, w 19 endemicznie, a 3 kraje mają status nieokreślony.

Straty w sektorze mleczarskim w Irlandii w skali roku wynoszą 63€ na jedną krowę, a całkowity koszt roczny obecności wirusa w stadach bydła mlecznego w tym kraju szacuje się na 72mln €. Okres zwrotu nakładów poniesionych na zwalczania wirusa BVD w Irlandii dla sektora mleczarskiego wyniósł 6 miesięcy.

3. Jak tanio zdiagnozować moje zwierzęta i jak skutecznie usunąć wirusa ze stada?

a) **Wykonać badania wirusologiczne** wycinków skóry ucha od **wszystkich zwierząt** w postaci próbek pulowanych – koszt badania jednego zwierzęcia nie przekroczy 10 zł.

b) Jak najszybciej **usunąć ze stada siewców wirusa**, ale nie sprzedawać ich sąsiadom, tylko skierować do rzeźni. Osobników zakażonych trwale nie da się wyleczyć.

c) **wdrożyć elementy bioasekuracji** aby zabezpieczyć stado przed ponownym wprowadzeniem wirusa, rozważyć możliwość szczepień profilaktycznych, zwłaszcza w stadach z dużą rotacją, unikać korzystania ze wspólnych pastwisk i częstych kontaktów z innymi zwierzętami (np. podczas wystaw hodowlanych).

d) remont stada w oparciu o **zakup osobników wolnych od zakażenia** (wynik ujemny badania testem PCR)

4. Czy siewcy wirusa są skutecznym źródłem zakażenia w stadzie?

Tak, wystarczy godzinny kontakt bezpośredni, aby doszło do zakażenia osobnika wrażliwego.

5. Przykłady możliwych dróg wprowadzenia wirusa do stada

- Zakup zwierząt o nieznanym statusie epizootycznym (brak negatywnego wyniku badania wirusologicznego);
- Zakup ciężarnych jałówek/krów posiadających przeciwciała jako wynik zakażenia naturalnego – ryzyko urodzenia zakażonego cielaka, siewcy wirusa;
- Udział w wystawie hodowlanej bez wymaganych certyfikatów zdrowia dla wszystkich zwierząt;
- Korzystanie ze wspólnych pastwisk;
- Wizyty w gospodarstwie osób postronnych mających wcześniej kontakt ze zwierzętami zakażonymi przy braku skutecznej bioasekuracji;

6. Co robić aby utrzymać status stada wolnego od zakażenia wirusem BVD?

Monitorować stado, unikać zakupu zwierząt bez ujemnych wyników badania na obecność wirusa, przestrzegać zasad bioasekuracji, rozważyć szczepienia profilaktyczne.

7. Czy warto mieć stado wolne od zakażenia wirusem BVD?

O randze problemu świadczy fakt, że aktualnie 23 kraje posiadają programy zwalczania zakażeń bydła wirusem BVD, z czego na poziomie krajowym stanowią one 77%. Finansowanie prywatne zwalczania realizowane jest w 50%. Pięć krajów posiada status krajów wolnych od BVD, w sześciu choroba występuje sporadycznie, a w 19 endemicznie.

Dane szacunkowe strat ekonomicznych na poziomie stada zakażonego wirusem BVD są porównywalne z kosztami leczenia stanów zapalnych wymienia. W jednym z dużych gospodarstw, o wysokiej produktywności z Wielkopolski, oszacowano parametry produkcyjne przed i po usunięciu siewców wirusa ze stada. Likwidacja źródła zakażenia tym patogenem zmniejszyła ryzyko poronienia o 50%, czas do pierwszego porodu skrócił się o 10%, śmiertelność cieląt spadła aż o 80%, wskaźnik brakowania zwierząt ze stada spadł o 34%, a jakość produkowanej siary uległa poprawie (aż 75% posiadało gęstość powyżej 150 gr/L).

8. Czy koszty badań laboratoryjnych są wysokie?

Analizując całkowite koszty zwalczania zakażeń bydła wirusem BVD można stwierdzić, że koszty badań laboratoryjnych są relatywnie niskie zwłaszcza w przypadku pobierania próbek przez hodowcę oraz wykonywania badań próbek pulowanych. Preferowanym materiałem do badań wirusologicznych

są wycinki skóry małżowiny usznej, które może pobierać sam hodowca np. podczas kolczykowania nowonarodzonych cieląt, a możliwość pulowania próbek od 20 zwierząt w jednej próbce, sprawia, że koszt badania jednego zwierzęcia nie przekracza 10 zł. Dodatkowym bonusem, w stadach nieszczepionych i wolnych od siewców wirusa, jest możliwość prowadzenia monitoringu serologicznego stada (na obecność przeciwciał), w oparciu o badanie pojedynczych próbek mleka tankowego, w odstępach kilkumiesięcznych. Warto dodać, że w przypadku stad wolnych od zakażenia tym wirusem można zwiększyć liczbę próbek w puli co dodatkowo zmniejszy koszty badań laboratoryjnych po stronie hodowcy.

Sekcja Parazytologiczna

Problem zakażeń *Alaria alata* u dzików

Aneta Bęćcik, Ewa Bilaska-Zajac, Weronika Korpysa-Dzirba, Jacek Karamon,
Tomasz Cencek

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych

Krótką charakterystyka

Produkty ekologiczne, wytwarzane tradycyjnymi, naturalnymi metodami cieszą się coraz większym zainteresowaniem wśród konsumentów. Jednym z nich, zyskującym popularność, są surowe lub półsurowe wyroby z dziczyzny (m.in. kiełbasy, szynki dojrzewające), głównie ze względu na wysoką wartość odżywczą, niską kaloryczność oraz charakterystyczną konsystencję

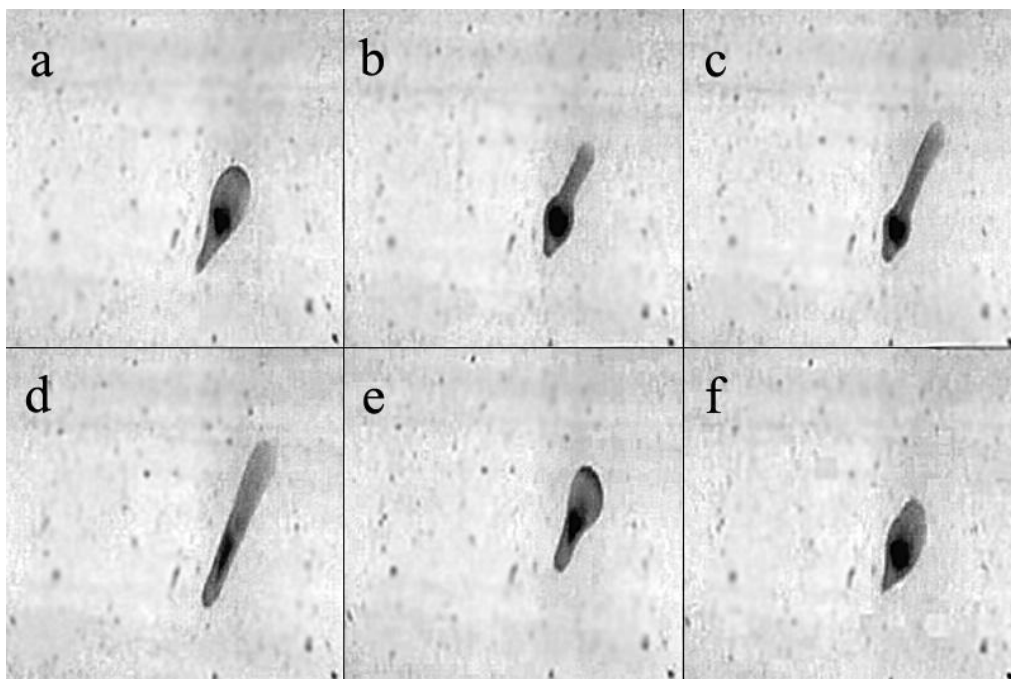
i smak. Rosnące zapotrzebowanie na wyroby z dziczyzny spowodowało także wzrost zagrożenia dla konsumentów inwazjami pasożytów m.in. inwazją przywry *Alaria alata*. Dojrzałe przywry *A. alata* występują w jelitach cienkich zwierząt mięsożernych, mają 3-6 mm długości oraz 1-2 mm szerokości. Ich ciało podzielone jest na dwie części, z których przednia – spłaszczona, jest dłuższa i szersza od części tylnej – walcowatej (Ryc. 1). W przedniej części po obu stronach przyssawki gębowej widoczne są charakterystyczne „uszka”.

Ryc. 1. Dorosłe stadium *A. alata* wyizolowane z jelita cienkiego lisa rudego (powiększenie 40x) (J. Karamon, 2021)



Forma larwalna *A. alata* zwana motyliczką mięśniową może występować między włóknami mięśniowymi w delikatnych łącznotkankowych cystach jako owalne twory o długości 0,4-0,6 mm. Niekiedy można zaobserwować je pełzające po powierzchni tkanki mięśniowej lub tłuszczowej po uwolnieniu z cyst. (Ryc. 2a-f).

Ryc. 2a-f. Sekwencja zdjęć ukazująca ruch mezocerkarii *A. alata* wykrytych w tkance mięśniowej dzika w obrazie trichinoskopowym

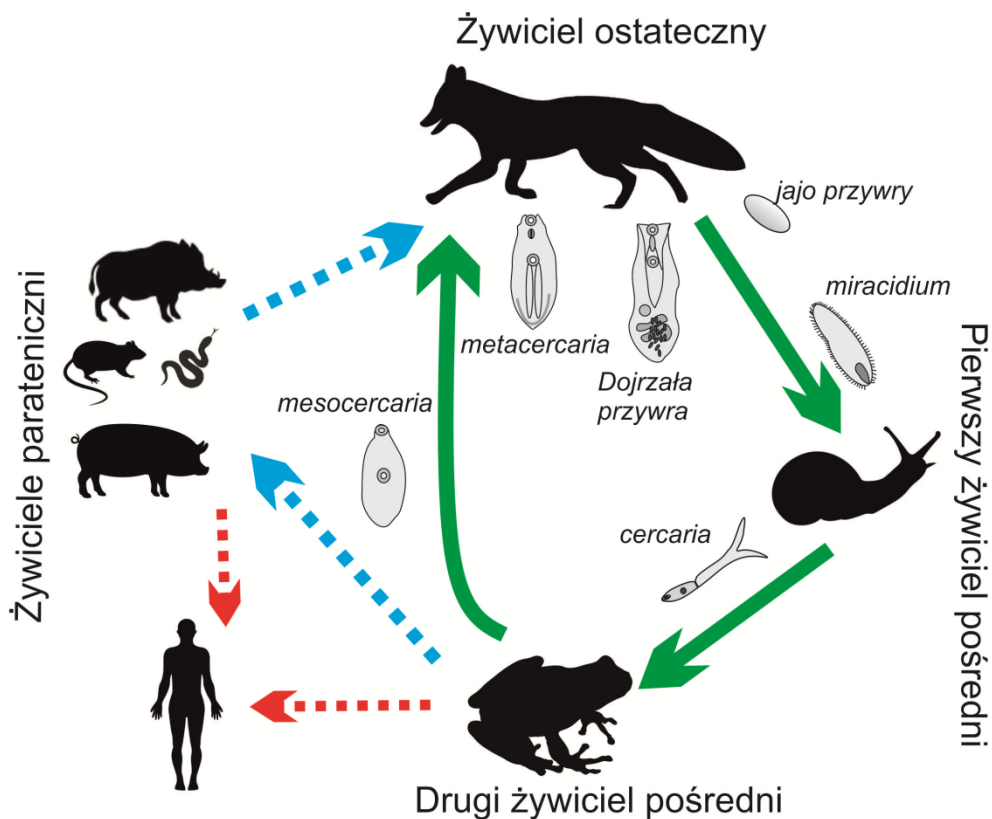


Cykl rozwojowy *A. alata*

Cykl rozwojowy przywry *A. alata* jest złożony (Ryc. 3). Żywicielami ostatecznymi są zwierzęta mięsożerne należące do: psowatych (Canidae), kotowatych (Felidae) i łasicowatych (Mustelidae), u których pasożyt bytuje w jelitach cienkich. Dojrzałe przywry składają jaja, które wraz z kałem dostają się do środowiska zewnętrznego. Po dwóch tygodniach w wodzie z jaj wykluwają się miracidia, które aktywnie poszukują pierwszego żywiciela pośredniego. Żywicielami takimi są ślimaki: zatoczek pospolity (*Planorbis planorbis*) oraz zatoczek ostrokrawędzisty (*Anisus vortex*). W wątrobotrzustce ślimaków miracidium przekształca się w sporocysty macierzyste, a następnie w sporocysty potomne, z których wykluwają się cerkarie (furocerkarie).

Drugim żywicielem pośrednim są kijanki i żaby. W ich ciele dochodzi do przemiany furocerkarii w mezocerkarie (postaci larwalne nazywane motyliczkami mięśniowymi), które umiejscawiają się w tkance mięśniowej (głównie w mięśniach języka, mięśniu podjęzykowym oraz mięśniach kończyn) tych żywicieli. Żywiciele ostateczni *A. alata*, zarażają się zjadając tkanki zarażonych motyliczką drugich żywicieli pośrednich. W jelicie cienkim żywicieli ostatecznych pasożyt osiąga dojrzałość płciową po 92-114 dniach od zarażenia. Formami larwalnymi *A. alata* (mezocerkariami) mogą zarazić się również inne zwierzęta np. myszy, szczury lub dziki. U zwierząt tych mezocerkarie, nie ulegając dalszemu rozwojowi, nie giną, lecz tworzą cysty w ich tkankach, zachowując w pełni zdolności do zarażania kolejnych żywicieli. Pełnią więc one rolę żywicieli paratenicznych (rezerwowych). Ten rodzaj żywiciela postaci larwalnej nie jest konieczny do zamknięcia cyklu rozwojowego pasożyta, a pasożyt nie przechodzi w nim żadnych lub jedynie drobne zmiany rozwojowe). Wśród żywicieli paratenicznych, szczególnie często zarażeniu motyliczką ulegają dziki, u których pasożyty najczęściej wędrują do mięśni oraz tkanki tłuszczowej. Żywicielem paratenicznym *A. alata* może być również człowiek.

Ryc.3. Cykl życiowy *A. alata* (J. Karamon)



Chorobotwórczość

U żywicieli ostatecznych inwazja wywołana przez dorosłe postacie *A. alata* przebiega najczęściej bezobjawowo. Przy masowym występowaniu może powodować zapalenia jelit oraz ogólne intoksykacje. Przez długi okres inwazje *A. alata* uważano za niepatogenne dla ludzi. W połowie XX wieku zauważono jednak, że pasożyty te stanowią potencjalne zagrożenie dla zdrowia człowieka. Zarażenie larwami motyliczki mięśniowej u ludzi wywołuje jednostkę chorobową określaną jako alarioza (alariosis). Do najbardziej powszechnych objawów tej choroby zalicza się zaburzenia pracy układu oddechowego (np. krwotoki płucne), zmiany skórne, ból głowy, gorączkę,

katar, kaszel, bóle mięśni, zapalenia siatkówki i nerwu wzrokowego a nawet wstrząs anafilaktyczny, który może doprowadzić do śmierci, szczególnie w przypadku osób z zaburzeniami funkcji układu immunologicznego. Do tej pory w literaturze stwierdzono kilka klinicznych przypadków zarażeń przywrami *Alaria sp.* u ludzi, głównie w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej oraz w Kanadzie. W Polsce odnotowane dotychczas zachorowania na alariozę były wynikiem spożycia mięsa z dzików i gęsi zarażonych *A. alata*, które nie zostały poddane odpowiedniej obróbce termicznej. Ze względu na mało specyficzne objawy kliniczne liczba zachorowań może być jednak znacznie niedoszacowana.

Wykrywanie i występowanie *A. alata* u dzików

Ocenia się, że na terenie Polski jednym z głównych źródeł zarażeń *A. alata* są dziki. Wynika to ze stosunkowo dużego pozyskiwania mięsa tego gatunku oraz tradycji spożywania wyrobów, które bardzo często nie są poddawane odpowiedniej obróbce termicznej gwarantującej inaktywację tych przywr. Z danych Polskiego Związku Łowieckiego wynika np. że w roku łowieckim 2021/2022 pozyskano 108 301 tusz dzików, w ramach polowań oraz odstrzału sanitarnego.

Większość dotychczasowych przypadków wykrycia *A. alata* w mięsie dzików miało miejsce przy okazji badań wykonywanych w kierunku obecności włośni. Badanie mięsa dzików na obecność włośni jest obligatoryjne i wykonywane jest głównie metodą wytrawiania z zastosowaniem magnetycznego mieszania. W ostatnich latach stosując tę metodę mezocerkarie *A. alata* wykryto jednocześnie u 0,02-3% badanych dzików. Jednakże metoda ta ogranicza możliwość wykrycia mezocerkarii przede

wszystkim z powodu niskiej odporności przywr na działanie płynu wytrawiającego (mieszanki wody, kwasu solnego oraz pepsyny), który może powodować ich uszkodzenie i jednocześnie utratę charakterystycznej dla mezocerkarii zdolności do poruszania się, co znacznie utrudnia ich identyfikację. Ponadto stosowane w metodzie wytrawiania sita do filtracji płynu mogą zatrzymywać mezocerkarie, które osiadają na sitkach przez co nie trafiają do ostatniego etapu badania. Dlatego też wykrycie *A. alata* w przypadku stosowania metody wytrawiania ma charakter przypadkowy i metoda ta nie może być stosowana do rutynowego wykrywania tych pasożytów.

Ze względu na dość niską czułość metody wytrawiania w odniesieniu do wykrywania motyliczki mięśniowej, w Niemczech w Federalnym Instytucie ds. Oceny Ryzyka (BfR) opracowano metodę migracji larw *A. alata* (AMT – mesocercariae migration technique). W metodzie AMT badaniu poddaje się próbkę rozdrobnionego mięsa o masie $30\text{g} \pm 2\text{g}$, którą przenosi się na sitko umieszczone w lejku zakończonym zaworkiem i zanurzonym razem z próbką w ciepłej wodzie ($46\text{-}48^{\circ}\text{C}$). W tym czasie mezocerkarie opuszczają tkankę mięśniową, przemieszczają się do płynu, osiadając na dnie lejka. Po 90 minutach spuszcza się 20 ml płynu do cylindra miarowego, a następnie płyn ten ogląda się pod stereomikroskopem lub trychinoskopem przy powiększeniu 15-20x na płytkach Petriego lub rynienkach do liczenia larw. Powyższą metodą autorzy zbadali 286 zarchiwizowanych próbek mięsa dzików, które były zakwalifikowane jako niezawierające mezocerkarii *A. alata* podczas badania w kierunku wykrywania włośni metodą wytrawiania z zastosowaniem magnetycznego mieszania. Badania wykonane metodą AMT wykazały, że 11,5% badanych próbek zawierało jednak mezocerkarie *A. alata*.

W Polsce, w 2020 roku Strokowska i wsp. zbadali 221 próbek mięsa dzików upolowanych na terenie województw: kujawsko-pomorskiego, lubelskiego, mazowieckiego, pomorskiego i warmińsko-mazurskiego w kierunku wykrywania obecności *A. alata* metodą AMT. W 98 próbkach (44,3%) potwierdzono obecność mezocerkarii. Tak wysoki odsetek próbek dodatnich prawdopodobnie spowodowany jest tym, że w rejonie, z którego pochodziły badane dziki jest dużo jezior, rzek oraz bagien, które stanowią idealne środowisko życia dla żywicieli pośrednich tej przywry. W tym samym roku, Bilska-Zajac i wsp. (2020) opublikowali wyniki badań w kierunku występowania *A. alata* w mięsie dzików pochodzących z 13 województw. W ramach tej pracy, z użyciem metody AMT zbadano 3589 próbek, z których 151 (4,2%) było dodatnich. Przy czym, podobnie jak w badaniach Strokowskiej i wsp., największą częstość występowania infekcji stwierdzono w województwie zachodniopomorskim (60%) i pomorskim (50%). W próbkach pochodzących z pozostałych województw (małopolskie, świętokrzyskie, dolnośląskie, śląskie, podkarpackie, lubuskie, łódzkie, wielkopolskie, opolskie, lubuskie, mazowieckie) odsetki te były znacznie niższe (0-15,1%). Różnice w otrzymanych wynikach najprawdopodobniej związane są z różnymi warunkami środowiskowymi występującymi w poszczególnych województwach.

Podsumowanie

Formy larwalne *A. alata* coraz częściej stanowią zagrożenie dla zdrowia ludzi zwłaszcza, że pasożyt ten cechuje się znaczną opornością na działanie wysokich i niskich temperatur. Osoby spożywające surowe lub półsurowe wyroby z dzicyzny, powinny mieć świadomość istnienia potencjalnego zagrożenia jakim jest alarioza wywołana przez mezocerkarie

A. alata. Jedyną dotychczas potwierdzoną w badaniach metodą inaktywacji mezocerkarii motyliczki mięśniowej jest obróbka termiczna mięsa w co najmniej 72°C. Aby móc w pełni ocenić ryzyko związane z konsumpcją produktów mięsnych wytwarzanych domowymi sposobami potrzebne są dalsze badania uwzględniające różne rodzaje obróbki mięsa takie jak: fermentacja, wędzenie i suszenie. Należy również prowadzić badania poubojowe pod kątem występowania motyliczki, stosując metody dedykowane do wykrywania tych pasożytów.

Obecność mezocerkarii *A. alata* u co najmniej połowy badanych dzików na niektórych obszarach Polski, wskazuje na konieczność przeprowadzenia pełnej oceny sytuacji epizootycznej tej pasożytozy w kraju, szczególnie u zwierząt mogących stanowić bezpośrednie lub pośrednie źródło zarażenia dla człowieka. W tym celu niezbędne wydaje się opracowanie i wdrożenie odpowiednich metod diagnostycznych umożliwiających uzyskanie wiarygodnych wyników oraz ustalenie kryteriów oceny tusz w przypadku stwierdzenia *A. alata*.

Sekcja Różne

Kontrola występowania substancji przeciwbakteryjnych w paszach i paszach leczniczych

Monika Przeniosło-Siwczyńska, Krzysztof Kwiatek

Zakład Higieny Pasz

Realizowany w Polsce Plan Urzędowej Kontroli Pasz (PUKP) ma na celu zapewnienie bezpieczeństwa pasz i pasz leczniczych stosowanych w żywieniu zwierząt gospodarskich. PUKP uwzględnia konieczność prowadzenia badań laboratoryjnych pasz w kierunkach stanowiących wyróżniki bezpieczeństwa, do których zalicza się antybiotyki i inne substancje przeciwbakteryjne. W ramach urzędowej kontroli pasz prowadzone są badania w zakresie wykrywania substancji przeciwbakteryjnych w paszach jako uzupełnienie urzędowego nadzoru nad produkcją żywności. Przy organizacji badań kontrolnych pozostałości leków przeciwbakteryjnych w żywności często przyjmuje się strategię prowadzenia badań składającą się z dwóch etapów, a mianowicie badanie metodą przesiewową i następnie metodą potwierdzającą. Podobne podejście proponuje się dla prowadzenia urzędowej kontroli występowania substancji przeciwbakteryjnych w paszach.

Kontrola występowania substancji przeciwbakteryjnych w paszach i paszach leczniczych realizowana jest w Polsce przy zastosowaniu metod mikrobiologicznych i metod opartych na technice chromatografii cieczowej z różnymi rodzajami detektorów w strategii opisanej poniżej:

- analiza przesiewowa (skriningowa) – polega na zastosowaniu prostych, szybkich metod, które w krótki czasie, przy niskich kosztach,

umożliwiają zbadanie dużej liczby próbek, np. metod mikrobiologicznych;

- analiza potwierdzająca – to zastosowanie technik instrumentalnych, które dają możliwość potwierdzenia lub wykluczenia wyników dodatnich uzyskanych metodą przesiewową poprzez precyzyjną analizę jakościową i dokładną analizę ilościową.

Przesiewowa metoda mikrobiologiczna do badań w kierunku wykrywania substancji przeciwbakteryjnych, w tym niedozwolonych antybiotykowych stymulatorów wzrostu w paszach, została wdrożona w 10 Zakładach Higieny Weterynaryjnej (w Białymstoku, Bydgoszczy, Gdańsku, Krośnie, Łodzi, Olsztynie, Poznaniu, Szczecinie, Warszawie i Wrocławiu). Każda próbka, która w badaniu przesiewowym dała wynik dodatni musi zostać poddana analizie potwierdzającej z wykorzystaniem metod instrumentalnych, najczęściej chromatograficznych, np. chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas (LC-MS, LC-MS/MS) lub detekcją fluorescencyjną (HPLC-FLD). W tym celu właściwy powiatowy lekarz weterynarii kieruje przedmiotową próbkę do badań potwierdzających w Zakładzie Higieny Pasz – Krajowym Laboratorium Referencyjnym PIWet-PIB w Puławach.

W grudniu 2018 roku ukazały się trzy nowe rozporządzenia (UE) dotyczące: leków weterynaryjnych, pasz leczniczych oraz produktów leczniczych dla ludzi i do użytku weterynaryjnego, które tworzą pakiet „Leki dla zwierząt” (ang. *Animal medicines package*) i które określają szereg konkretnych wymagań służących walce z antybiotykoopornością oraz promowaniu rozsądnego i odpowiedzialnego stosowania substancji przeciwbakteryjnych w medycynie weterynaryjnej. Nowe rozporządzenie

dotyczące pasz leczniczych obejmuje swoim zakresem wytwarzanie, przechowywanie, transport, wprowadzanie na rynek i stosowanie paszy leczniczej u zwierząt wykorzystywanych do produkcji żywności oraz u zwierząt domowych.

Pasza lecznicza jest specyficznym rodzajem paszy oraz, równocześnie, jest jednym ze sposobów doustnego podania produktów leczniczych weterynaryjnych. W Polsce paszę leczniczą można wytwarzać jedynie z produktami przeznaczonymi do tego celu, czyli z premiksami leczniczymi dopuszczonymi do obrotu przez Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych i znajdującymi się w Wykazie produktów leczniczych weterynaryjnych dopuszczonych do obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej. Biorąc pod uwagę bezpieczeństwo stosowania pasz leczniczych można wyróżnić dwa główne problemy związane z ich zastosowaniem:

1) niedokładne dawkowanie produktów leczniczych weterynaryjnych – nieprawidłowe dawkowanie może wywołać działania niepożądane u zwierząt (zbyt duża dawka) lub zwiększyć ryzyko, że zwierzęta nie zostaną wyleczone (zbyt niska dawka). Konsekwencje niedokładnego dawkowania mogą obejmować:

- zatrucia zwierząt (zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego, objawy toksyczne),
- wystąpienie pozostałości antybiotyków w produktach pochodzenia zwierzęcego,
- nieskuteczne leczenie chorych zwierząt, ponieważ nie otrzymują one produktów leczniczych weterynaryjnych w stężeniu terapeutycznym,

- zwiększone ryzyko wystąpienia oporności na substancje przeciwbakteryjne spowodowane stosowaniem ich poniżej stężeń terapeutycznych;
- 2) pozostałości produktów leczniczych weterynaryjnych w paszy – chodzi tutaj o problem zanieczyszczeń krzyżowych antybiotykami przenoszonymi z paszy leczniczej do następnej wytwarzanej mieszanki paszowej. Konsekwencje występowania pozostałości produktów leczniczych obejmują zwiększone ryzyko rozwoju oporności na substancje przeciwbakteryjne. Obecność niskich dawek tych substancji może sprzyjać selekcji opornych mikroorganizmów.

Aby zapewnić bezpieczeństwo i skuteczność stosowania paszy leczniczej musi ona spełniać określone wymagania, co do zawartości substancji przeciwbakteryjnej (substancji czynnej) oraz homogeniczności (jednorodności wymieszania produktu leczniczego z paszą), tak, aby każde zwierzę otrzymało wymaganą dawkę leczniczą, zgodną z receptą lekarza weterynarii. Laboratoryjna kontrola pasz leczniczych jest prowadzona przy użyciu farmakopealnych metod mikrobiologicznych, a opracowane metody zostały wdrożone w pięciu Zakładach Higieny Weterynaryjnej (w Białymstoku, Bydgoszczy, Krośnie, Olsztynie i Szczecinie).

Zapewnienie odpowiedniej kontroli występowania substancji przeciwbakteryjnych w paszach i paszach leczniczych ma kluczowe znaczenie w zapewnieniu odpowiedniego poziomu bezpieczeństwa wytwarzanych w Polsce mieszanek paszowych oraz środków spożywczych zwierzęcego pochodzenia. Opisana strategia kontroli ma ogromne znaczenie dla zapewnienia bezpieczeństwa całego łańcucha żywnościowego, realizując

zadania już na etapie produkcji pierwotnej, które w efekcie przyczyniają się do wdrożenia działań na rzecz ograniczenia stosowania substancji przeciwbakteryjnych, produkcji zwierzęcej „bez antybiotyków”, walki z antybiotykoopornością oraz ochrony zdrowia publicznego.

Piśmiennictwo:

1. Rozporządzenie (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz. Urz. z 28.10.2003, L268, 29-43)
2. Ustawa z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz.U. z 2004 r. Nr 33, poz. 287 z późn. zm.)
3. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 21 czerwca 2017 r. w sprawie monitorowania substancji niedozwolonych, pozostałości chemicznych, biologicznych, produktów leczniczych i skażeń promieniotwórczych (Dz. U. z 2017, poz. 1246)
4. Plan Urzędowej Kontroli Pasz na rok 2022. Główny Inspektorat Weterynarii. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.
5. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/4 z dnia 11 grudnia 2018 r. w sprawie wytwarzania, wprowadzania na rynek i stosowania paszy leczniczej, zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady oraz uchylającego dyrektywę Rady 90/167/EWG
6. Rozporządzenie (WE) nr 183/2005 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 12 stycznia 2005 r. ustanawiające wymagania dotyczące higieny pasz (Dz. Urz. z 8.02.2005, L35, 1-22)

7. Ustawa z dnia 22 lipca 2006 r. o paszach (Dz.U. z 2006 r. Nr 144, poz. 1045 z późn. zm.)

8. Obwieszczenie Prezesa Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych z dnia 3 sierpnia 2021 r. w sprawie ogłoszenia Urzędowego Wykazu Produktów Leczniczych Dopuszczonych do Obrotu na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej (Dz. U. z 2021 r. poz. 57)

