



PRACE ORYGINALNE



ANDRZEJ FITZNER, ANDRZEJ KĘSY, WIESŁAW NIEDBALSKI, GRAŻYNA PAPROCKA

Krwotoczna choroba królików (VHD) w Polsce – ocena na podstawie badań serologicznych

Zakład Badania Pryszczy PIWet., ul. Wodna 7, 98-220 Zduńska Wola

Fitzner A., Kęsy A., Niedbalski W., Paprocka G.

Prevalence of VHD in Poland: results of 2-years serological screening studies

Summary

A study on the seroprevalence of VHDV antibodies in rabbits in 5 different regions of Central and South-Eastern parts of Poland was undertaken. A total of 2180 samples of sera collected from animals small private farms were tested. Out of 630 examined samples of sera from large farms, 270 were taken from rabbits older than 2-months born from seropositive dams. The VHDV antibodies were recorded in 138 (6.3%) samples of sera with the level of various provinces of Poland from 3 to 11.2 %. We found out that the presence of the seropositive animals was due to VHDV infection as well as the prophylactic vaccination employed during the last years.

Pogłowie królików w Polsce szacuje się na kilkanaście milionów zwierząt. Zdecydowaną większość hodowli stanowią fermy drobnotowarowe liczące od kilku do kilkudziesięciu zwierząt. Najwięcej królików przeznacza się do uboju na mięso eksportowane lub wykorzystywane we własnym gospodarstwie domowym. Krwotoczna choroba królików (pomór królików) – VHD występuje w kraju od 1988 r. (5) i jest zwalczana z urzędu. Choroba ta obok myksomatozy i pasterelozy, stanowi główne zagrożenie dla hodowli królików. Jak wskazują obserwacje epizootyczne, obraz kliniczny choroby i jej przebieg pozostają bez zmian od wielu lat. Pomór królików jest szczególnie niebezpieczny w niewielkich hodowlach typu gospodarskiego (rodzinnego), w których nie prowadzi się systematycznej profilaktyki, a wymiana materiału reprodukcyjnego nie podlega żadnej kontroli. Czynniki te sprzyjają łatwemu i niezwykle szybkiemu rozprzestrzenianiu się wirusa w środowisku. Nasilenie zachorowań przypada w okresie letnim, wraz z pojawieniem się nowej populacji wrażliwych zwierząt. Zatem sezonowość hodowli i pojawienie się nowych pokoleń królików oraz wysoka przeżywalność wirusa VHD w środowisku w decydujący sposób przyczyniają się do utrzymywania się i rozwoju choroby.

Szacuje się, że szczepienia profilaktyczne obejmują tylko niewielką liczbę zwierząt, ok. 10% po-

głowia. Szczepienia ograniczone są zwykle do miejsc o największej tradycji hodowli królików tj. południowych regionów Polski.

Celem pracy była ocena rozprzestrzenienia się krwotocznej choroby królików (VHD) na podstawie screeningowych badań serologicznych zwierząt z różnych regionów kraju.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w okresie od jesieni 1996 r. do wiosny 1997 r. na grupie 2180 królików terenowych i 276 zwierzętach laboratoryjnych użytych do kontroli szczepionki przeciwko VHD. Surowice testowano stosując test ELISA tzw. liquid-phase blocking (LPBE) (3).

Surowice. Ogółem przeprowadzono 5 badań przeglądowych, w których przetestowano 2180 surowic od królików w wieku od ok. 3 do 7 miesięcy, pochodzących w przeważającej części z drobnych hodowli typu gospodarskiego. W jednym przypadku badano surowice uzyskane od królików z fermy tuczu przemysłowego. Króliki poddano ubojowi w 4 ubojniach położonych w centralnej i południowej części kraju. W jednej z ubojni krew do badań pobierano dwukrotnie w odstępie 4 miesięcy.

Z pierwszego przeglądu (Ksawerów-1) do badań użyto 453 surowice, z drugiego (Ksawerów-2) 525 surowic, z trzeciego (Krotoszyn) 630 surowic. Wśród badanych surowic 270 prób pobrano od królików 10-tygodniowych z hodowli typu przemysłowego, których matki były szczepione przeciwko pomorowi królików, myksomatozie i

pasterelozie. Z czwartego i piątego przeglądu (Rymanów i Dębica) zbzdano odpowiednio 179 i 393 próby surowic. Surowice wstępnie odwirowywano przy 2500 obr./min. i do czasu wykonania badań przechowywano w temp. -18°C. Grupę kontrolną stanowiły surowice pobrane od 276 królików użytych do kontroli nieszkodliwości i skuteczności 10-ciu kolejnych serii szczepionki przeciwko pomorowi królików – „Cunivac”. W grupie królików szczepionych i kontrolnych (niezaszczepionych) badano obecność i miano przeciwciał anti-VHD przed immunizacją (dzień 0) i w 14 dniu po podaniu szczepionki a także oceniano wrażliwość zwierząt na zakażenie zjadliwym szczepem wirusa VHD.

Test ELISA. Badania surowic wykonywano stosując zestaw do testu ELISA w wersji liquid-phase blocking ELISA (LPBE) opracowany w Zakładzie Pryszczycy PIWet. (3). W skład zestawu wchodzi surowice odpornościowe anti-VHDV kury i świnki morskiej, wzorcowe surowice królicze: dodatnia, progowa i ujemna, wystandaryzowany antygen wirusa VHD. Wszystkie surowice testowano punktowo. Test wykonywano zgodnie z opracowaną instrukcją zatwierdzoną przez MRiGŻ (4). Surowice królicze uznane za dodatnie bądź wątpliwe w badaniu punktowym ELISA, dodatkowo mianowano w teście ELISA i w odczynie zahamowania hemaglutynacji (HI). Miano przeciwciał LPBE anti-VHD określano jako graniczne rozcieńczenie testowanej surowicy, któ-

Tab. 1. Poziom przeciwciał VHDV w surowicach królików grupy kontrolnej, po immunizacji szczepionką „Cunivac”

Liczba zwierząt szczepionych*	Liczba zwierząt kontrolnych* (niezczepionych)	Miano przeciwciał ELISA		
		<20	20-160	>160
0/150	112/126	19	95	36

Objaśnienie:

*- w liczniku liczba królików, które padły w ciągu 72 godz. od odświadczonego zakażenia,

- w mianowniku liczba królików zakażonych zjadliwym wirusem VHD

rej wartość OD_{492} równa się 50% średniej wartości OD_{492} kontroli antygeny (bez surowicy). Surowice o mianie ELISA powyżej 20 traktowano jako pozytywne.

Odczyn zahamowania hemaglutynacji (HI). Surowice przed badaniem inaktywowano (temp. 56°C przez 30 min.) i poddawano absorpcji 25% roztworem kaolinu w celu usunięcia niespecyficznych inhibitorów. Odczyn wykonywano zgodnie z wcześniej opisaną metodą (2).

Wyniki i omówienie

Poziom przeciwciał VHD w 14 dniu po szczepieniu zwierząt kontrolnych przedstawia tab. 1. Króliki szczepione były odporne na zakażenie doświadczalne zjadliwym szczepem wirusa VHD wykonane w 14 dniu po immunizacji. Miano przeciwciał poszczepiennych w 2 tygodnie po immunizacji wynosi przeciętnie od 20 do 640. W 10 dniu po wykonaniu zakażenia kontrolnego poziom przeciwciał

Tab. 2. Wyniki badań monitoringowych królików na obecność przeciwciał VHD

Przegląd	Liczba badanych surowic	Typ hodowli (gospodarski-G) (przemysłowy -P)	Zasięg terytorialny	Liczba / (%) surowic dodatnich	Miano przeciwciał ELISA		
					<20	20-160	>160
1. Ksawerów	453	G	łódzkie, sieradzkie, piotrkowskie, skierniewickie	52 / 11,5	401	21	31
2. Ksawerów	525	G	łódzkie, sieradzkie, piotrkowskie, skierniewickie	29 / 5,5	496	9	20
3. Krotoszyn	630	270 szt. - P 360 szt. - G	bydgoskie, toruńskie, kaliskie, konińskie, koszalińskie	19 / 3,0	611	18	1
4. Rymanów	179	G	krośnieńskie, rzeszowskie	20 / 11,2	159	16	4
5. Dębica	393	G	tarnowskie, tarnobrzskie	18 / 4,6	375	11	7
Ogółem	2180			138 / 6,3	2043	75	63

znacznie wzrasta osiągając wartości od 640 do 2560. Całkowita odporność na zakażenie występuje już przy najniższych wartościach miana przeciwciał. Spośród królików nieszczepionych (kontrola), u których w badaniu serologicznym nie stwierdzono obecności przeciwciał VHD, wrażliwych na zakażenie doświadczalne było 88% zwierząt.

Wyniki badań monitoringowych na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi krwotocznej choroby królików przedstawiono w tab. 2. Z przedstawionych danych wynika, że z ogólnej liczby 2180 badanych surowic, jako pozytywne uznano 138 surowic (6,3%). Odsetek surowic dodatnich w poszczególnych rejonach kraju był zróżnicowany; najwięcej seroreagentów stwierdzono w surowicach zebranych w okresie jesiennym podczas pierwszego przeglądu królików z województw: sieradzkiego, łódzkiego, piotrkowskiego, skierniewickiego oraz z przeglądu zimowego z terenu województw krośnieńskiego i rzeszowskiego. Równocześnie, w surowicach królików z przeglądów 1 i 2 z rejonu łódzkiego stwierdzono największą liczbę prób o mianie wyższym niż 1/160. W grupie tej zdiagnozowano 27 surowic wysokododatnich o mianie ELISA równym lub wyższym niż 1/2560. Stwierdzono pełną korelację wyników uzyskanych w teście LPBE z otrzymanymi metodą HI. Relatywnie wysoki poziom mian przeciwciał VHD (2560-5120) odpowiada wartościom mian stwierdzanych w warunkach naturalnych u królików ozdrowieńców po niedawnym kontakcie z wirusem, bądź w warunkach laboratoryjnych u królików immunizowanych po wykonaniu zakażenia doświadczalnego (1, 3). Na podstawie własnych obserwacji oraz danych z terenu ustalono, że w województwach tych szczepi się stosunkowo dużo królików, z uwagi na stałe zagrożenie możliwością wystąpienia pomoru królików. Jednocześnie należy stwierdzić, że w zależności od regionu, od 90% do 97% поголовья królików jest wolna od przeciwciał, a w związku z tym wirus łatwo namnaża się w takim środowisku. Zwraca uwagę fakt, że najniższy odsetek królików seropozytywnych zanotowano w grupie królików z fermy wielkoprzemysłowej.

Z danych zaczerpniętych z biuletynów Departamentu Wet. dotyczących występowania VHD w Polsce wynika, że w okresie od stycznia 1996 r. do lutego 1997 r. choroba była regularnie stwierdzana w 21 województwach. Najczęściej notowano ją w województwach: białostockim, bydgoskim, gorzowskim, tarnobrzeskim, kieleckim, poznańskim. Informacje te dotyczą tylko oficjalnie zgłoszonych ognisk, a własne spostrzeżenia wskazują, że VHD występuje w znacznie większym nasileniu i liczba ognisk jest wielokrotnie wyższa oraz, że choroba ta ciągle stanowi poważny problem dla wielu hodowców.

Na podstawie uzyskanych wyników należy stwierdzić, że wirus krwotocznej choroby królików, od

momentu pojawienia się choroby w Polsce, jest stale obecny w środowisku i stanowi ciągle źródło zagrożenia, a nie napotykając żadnej bariery obronnej ze strony wrażliwych na zakażenie królików znajduje doskonałe warunki do namnażania się i szerzenia choroby. Istotny wpływ na taką sytuację ma szereg czynników: struktura hodowli, wysoka przeżywalność zarazka w środowisku, sezonowość odtworzenia populacji królików, sposób żywienia oraz brak ujednoliconego programu profilaktycznego. Analiza wyników przeprowadzonych dotychczas badań monitoringowych pozwala ocenić, że ponad 90% populacji królików jest wrażliwych na zakażenie wirusem pomoru królików. Dla uzyskania pełniejszego obrazu nieodzowne staje się przeprowadzenie badań monitoringowych na pozostałych obszarach kraju.

Obecność seropozytywnych zwierząt w pewnej części wiązać należy z prowadzonymi szczepieniami. Na celowość tego rodzaju działań profilaktycznych wskazuje osiągana wysoka skuteczność w zabezpieczeniu zwierząt przed zakażeniem.

Piśmiennictwo

1. Capucci L., Scicluna M. T., Lavazza A.: Rev. sci. tech. Off. int. Epis. 10, 347, 1991.
2. Fitzner A.: Wirus krwotocznej choroby królików i jego właściwości immunogenne. Praca dokt. PIWet., Puławy 1994.
3. Fitzner A., Niedbalski W.: Bull. vet. Inst. Puławy 40, 69, 1996.
4. Fitzner A., Niedbalski W., Kęsy A., Paprocka G.: Instr. MRiGŻ, WETz. III 4643, dg-1/96.
5. Górski J., Mizak B., Komorowski A.: Życie wet. 63, 266, 1988.

Adres autora: dr Andrzej Fitzner, ul. Wodna 22/3, 98-220 Zduńska Wola

TORO H., ESPINOZA C., PONCE Y., ROJAS V., MORALES M. A., KALETA E. F.: Zakaźne zapalenie oskrzeli: wpływ dawek wirusa i dróg zakażenia na odpowiedź immunologiczną we łzach i w surowicy kurcząt. (Infectious bronchitis: effects of viral disease and routes on specific lacrimal and serum antibody response in chickens). Avian Diseases 41, 374-387, 1997 (2)

Zastosowano odczyn ELISA do określenia miana przeciwciał we łzach i w surowicy kurcząt po szczepieniu w wieku 24 dni szczepionką przeciwko zakaźnemu zapaleniu oskrzeli (szczep IBV H-120) w dawce 10^2 , 10^4 i 10^6 do worka spojówkowego. Ponadto przebadano wpływ różnych dróg podania szczepionki (dospojówkowo, spray, z wodą do picia, do kloaki).

Szczepionka podana w dawce 10^6 EID₅₀ do worka spojówkowego indukuje odporność miejscową i ogólną. Niższe dawki nie indukują odpowiedniego stopnia odpowiedzi ogólnej. Znamienisty wzrost miana przeciwciał zawartych w klasie IgA występował we łzach po szczepieniu dawką maksymalną (10^6) i średnią (10^4 EID₅₀). Dawka 10^2 EID₅₀ nie indukowała wzrostu miana przeciwciał w klasie IgA. Podanie szczepionki każdą z dróg indukowało pojawienie się w surowicy przeciwciał w klasie IgG. Najwyższe ich miano notowano we łzach po szczepieniu do worka spojówkowego.