

Ocena wyników monitoringu czynnego BSE w Polsce w latach 2001-2004

MIROSŁAW POLAK, WOJCIECH ROŻEK, MAGDALENA LARSKA,
JERZY ROLA, JAN F. ŻMUDZIŃSKI

Zakład Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Polak M., Rożek W., Laska M., Rola J., Żmudziński J. F.

Evaluating the results of actively monitoring BSE in Poland between 2001-2004

Summary

Monitoring results of BSE outbreaks between 2001-2004 were the basis for an analysis of BSE prevalence in particular animal groups, its geographical distribution and epizootic trends in Poland. There has not been a substantial increase in the number of BSE cases in Poland despite significant imports of live animals and meat-and-bone meal from countries with confirmed BSE cases. The disease detection rate did not prove significant even after a marked increase in the number of tests performed in high risk animal groups, where the disease detection rate is high. The above data as well as confirming BSE in 80% of healthy animals, difficult clinical diagnosis and the lack of cases in BSE suspects between 1996-2001 point to the possible existence of sporadic cases of bovine spongiform encephalopathy in cattle in Poland, similar to the prevalence of Creutzfeldt-Jakob disease in man.

Keywords: BSE, TSE, active monitoring, risk group

Zgodnie z rozporządzeniem unijnym nr 999/2001, od stycznia 2001 r. w ramach tzw. monitoringu czynnego bydło ubijane w celu konsumpcji przez człowieka podlega obowiązkowym badaniom w kierunku gąbczastej encefalopatii bydła (BSE) z użyciem tzw. szybkich testów. Wynik badania dostępny jest w ciągu 24 godzin od dostarczenia próbki do laboratorium. Monitoring czynny, w przeciwieństwie do monitoringu biernego, pozwala wykonywać badania w skali masowej. Badania obejmują bydło powyżej 30. miesiąca życia. Zgodnie z cytowanym wyżej rozporządzeniem, badaniu w kierunku BSE podlega również tzw. grupa ryzyka. Grupa ryzyka obejmuje przypadki kliniczne podejrzane o BSE bez ograniczeń wieku oraz zwierzęta padłe, ubijane z konieczności oraz poddawane ubojowi sanitarnemu jeżeli są w wieku powyżej 24. miesiąca życia. Monitoring bierny, stosowany w krajach UE do 2001 r., oparty był na badaniu próbek pochodzących od zwierząt, które wykazywały objawy kliniczne nasuwające podejrzenie BSE. Badania wykonywano metodą histopatologiczną oraz immunohistochemiczną. Wykrywalność choroby w tej grupie zwierząt jest najwyższa, jednakże wprowadzenie czulszych metod diagnostycznych w postaci szybkich testów oraz stwierdzenie obecności białka prionowego także u klinicznie zdrowych zwierząt doprowadziło do zmian w schemacie badań w postaci tzw. czynnego

monitorowania choroby. Postępowanie to przyczyniło się do znacznego wzrostu liczby wykrytych przypadków BSE, potwierdzając skuteczność wprowadzonego systemu. Szczegółowe założenia takiego sposobu nadzoru nad chorobą, podobnie jak pierwsze wyniki badań monitoringowych opisano wcześniej (2, 3). Aktualnie w Polsce rutynowe badania monitoringowe wykonywane są w pięciu laboratoriach Zakładów Higieny Weterynaryjnej (ZHW) w Gdańsku, Krakowie, Lesznie, Warszawie i we Wrocławiu z użyciem dwóch szybkich testów, a grupy badanych zwierząt i ich przedziały wiekowe odpowiadają wymaganiom zawartym w przytaczanym wcześniej rozporządzeniu (1).

Celem opracowania była analiza wyników badań monitoringowych i próba oceny tendencji rozwoju epizootii BSE w Polsce w latach 2001-2004.

Materiał i metody

Materiał do badań szybkimi testami stanowił pień mózgu bydła. Badania wykonywano testami Prionics-Check (Prionics), Platelia-BSE (Biorad), Enfer-TSE (Enfer Inc.) oraz Prionics-LIA (Prionics) zgodnie z zaleceniami producenta z użyciem sprzętu odpowiedniego dla danej metody. Badanie składało się z trzech etapów: przygotowanie homogenatu z pnia mózgu, oczyszczenie patologicznej formy białka PrP, czyli PrP^{Sc} (selektywna degradacja formy fizjologicznej – PrP^C z użyciem enzymu proteolitycznego)

Tab. 1. Przypadki BSE wykryte w Polsce w okresie 05.2002-30.11.2004

Przypadek/ rok wykrycia	Rok urodzenia	Wiek (lat)	Grupa	Województwo	Wyniki badań			
					Szybkie testy	HE	IHC	Immunoblot*
1/2002	1993	9	Zdrowe	Małopolskie	+	-	+	+
2/2002	1990	12	Zdrowe	Lubelskie	+	+	+	+
3/2002	1996	6	Zdrowe	Opolskie	+	+	+	+
4/2002	1994	8	Podejrzenie BSE	Lubelskie	n.b. (1)	+	+	n.b. (1)
5/2003	1996	7	Podejrzenie BSE	Warmińsko-mazurskie	n.b. (1)	+	+	n.b. (1)
6/2003	1998	5	Zdrowe	Małopolskie	+	+	+	+
7/2003	1997	6	Zdrowe	Mazowieckie	+	+	+	+
8/2003	1997	6	Zdrowe	Kujawsko-pomorskie	+	-	+	+
9/2003	1996	7	Zdrowe	Mazowieckie	+	+	+	+
10/2004	1992	12	Zdrowe	Podlaskie	+	+	+	+
11/2004	1998	6	Padłe	Lubuskie	+	+	+	+
12/2004	1996	8	Zdrowe	Wielkopolskie	+	+	+	+
13/2004	1997	7	Zdrowe	Lubelskie	+	-	+	+
14/2004	1996	8	Zdrowe	Zachodniopomorskie	+	+	+	+
15/2004	1995	9	Zdrowe	Warmińsko-mazurskie	+	+	+	+
16/2004	1996	8	Zdrowe	Łódzkie	+	n.b. (2)		+
17/2004	1992	12	Zdrowe	Podkarpackie	+	n.b. (2)	+	+
18/2004	2000	4	Zdrowe	Łódzkie	+	n.b. (2)		+
19/2004	1994	10	Ubój z konieczności	Wielkopolskie	+	n.b. (2)	+	+
20/2004	1996	8	Zdrowe	Małopolskie	+	+	+	+

Objaśnienia: * pierwsze dwa przypadki BSE potwierdzono w niemieckim laboratorium referencyjnym metodą SAF-Immunoblot (dzięki uprzejmości dr Martina Groschupa), natomiast pozostałe przypadki potwierdzano metodą immunoblot w wersji hybrydowej (4); n.b.⁽¹⁾ – nie badano (utrwalenie pnia mózgu w formalinie uniemożliwiło homogenizację próbki); n.b.⁽²⁾ – nie badano (brak rejonu zasuwki lub mrożony materiał)

oraz wykrycie formy patologicznej w badanej próbce (fragmentu PrP^{Sc} pozostałego po proteolizie z użyciem proteiny K – tzw. PrP^{res}). Ilościowy wynik badania odnoszono do wartości progowej, określonej przez producenta danego testu. W przypadku uzyskania wyniku dodatniego (w dwukrotnym badaniu), stawiano podejrzenie BSE. W takim przypadku próbki wysyłano do Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego (PIWet. – PIB) w Puławach – Zakład Wirusologii, który obok Zakładu Anatomii Patologicznej pełni rolę krajowego laboratorium referencyjnego ds. BSE. Każde podejrzenie BSE potwierdzano trzema metodami: histopatologiczną, immunohistochemiczną oraz hybrydową odmianą metody immunoblot (4). Dane dotyczące liczby wykonanych badań w ramach monitoringu czynnego pochodziły z Zakładu Wirusologii PIWet. – PIB w Puławach, z laboratoriów ZHW oraz z informacji udostępnionych przez Główny Inspektorat Weterynarii.

Wyniki i omówienie

W okresie od stycznia 2001 r. do końca listopada 2004 r. w Polsce wykryto 20 przypadków gąbczastej encefalopatii bydła (tab. 1). W powyższym okresie przebadano 1 213 745 próbek pnia mózgu. Liczbę próbek zbadanych w poszczególnych grupach zwierząt

przedstawia tab. 2. Wykrywalność choroby rosła z każdym rokiem. W 2001 r. nie stwierdzono przypadków BSE, natomiast w 2002 – 4 przypadki, 2003 – 5, w 2004 – 11. Odnosząc liczbę przypadków BSE do pogłowia bydła powyżej 24. miesiąca życia zauważono tendencję wzrostową. Wskaźnik częstości wystąpienia BSE u bydła powyżej 24. miesiąca życia na 1 mln osobników (5) w 2002 r. wyniósł 1,2, 2003 – 1,5 oraz w 2004 – 3,3. Także stosunek liczby przypadków wykrytych w danym roku do 10 000 zwierząt zbadanych wzrósł z 0,1 w 2002 r. oraz 2003 r. do wartości 0,2 w 2004 r. (dane do końca października 2004). Rozkład geograficzny BSE, z przewagą we wschodniej części Polski (70% przypadków), odpowiada gęstości populacji zwierząt (61% bydła hoduje się we wschodniej części kraju). Analiza wykrytych przypadków pod względem roku urodzenia wskazuje, że większość z nich (8 przypadków) wystąpiła u zwierząt urodzonych w 1996 r. Niska liczba wykrytych przypadków, przy znaczącym imporcie mączek mięsno-kostnych i bydła z krajów z potwierdzonym BSE wskazuje, że przypadki choroby w Polsce mogą nie być wynikiem wprowadzenia choroby z zewnątrz. Pomimo dużej liczby wykonanych badań, mała liczba stwierdzonych

Tab. 2. Liczba badań szybkimi testami w kierunku BSE w okresie styczeń 2001 – październik 2004

Rok	Zdrowe	Ubój z konieczności	Ubój sanitarny	Zwierzęta padłe	Podjęcie BSE	Zwalczanie BSE	Suma	Wyniki dodatnie
2001	68 432	898	11	190	3	0	69 534	0
2002	278 709	4709	1183	1944	47	44	286 636	4
2003	428 452	9401	2757	14 715	88	37	455 450	5
01-10. 2004	371 832	7870	1987	20 314	73	49	402 125	9
Suma	1 147 425	22 878	5938	37 163	211	130	1 213 745	18

przypadków BSE sugeruje, że w Polsce może występować sporadyczna postać choroby, podobnie jak ma to miejsce u ludzi ze sporadyczną postacią choroby Creutzfeldta-Jakoba. Ponad dwukrotny wzrost liczby przypadków w 2004 r. w stosunku do 2003 r., okres wprowadzenia zabezpieczeń przed BSE w Polsce (lata 1999-2002) oraz średni czas inkubacji choroby (4-6 lat), sugerują, że najwięcej zachorowań należałoby oczekiwać w latach 2005-2008. W 2002 r. zdiagnozowane przypadki urodzone były w latach 1990-1996, natomiast w 2003-2004 zanotowano zachorowania także w rocznikach 1997, 1998, a nawet 2000. Najwięcej przypadków BSE zanotowano u zwierząt 8-letnich (5 przypadków) oraz 6-letnich (4 przypadki). Najmłodsze zwierzę miało 4 lata, a najstarsze 12 lat. Jednakże wzrost liczby wykrytych przypadków BSE może wiązać się także ze skutecznym systemem nadzoru nad występowaniem BSE w populacji bydła w Polsce.

Podstawowy zarzut ekspertów UE w stosunku do Polski odnośnie do nadzoru nad BSE w latach 2001-2003 dotyczył zbyt małej liczby badań wykonywanych w grupie ryzyka, a zwłaszcza w grupie zwierząt padłych. Doświadczenie krajów UE wskazuje, że wykrywalność choroby w tej kategorii zwierząt jest bardzo wysoka, co przy badaniu małej liczby zwierząt może oznaczać niedoszacowanie skali epizootii. W Polsce od 2002 r., corocznie notuje się znaczący wzrost liczby badań w całej grupie ryzyka, a zwłaszcza wśród zwierząt padłych. Pomimo tego nie zarejestrowano większej liczby zachorowań. Spośród 20 wykrytych dotychczas przypadków BSE, 80% stwierdzono w grupie zwierząt zdrowych (tylko dwa dotyczyły zwierząt z objawami nerwowymi, a po jednym zanotowano u krowy padłej oraz ubitej z konieczności). Dane te wskazują na odmienny charakter epizootii BSE w Polsce w stosunku do pozostałych krajów, podkreślając możliwość spontanicznego występowania choroby w kraju. Można przypuszczać, że notowana w Polsce niska częstotliwość zachorowań na BSE (typowa dla schorzeń sporadycznych), do 2002 r. uniemożliwiała wykrycie tej choroby. Związane to było przede wszystkim z niską czułością stosowanej metody oraz znikomą skalą wykonywanych badań. Dopiero wdrożenie czułych testów diagnostycznych umożliwiających wykonywanie badań masowych pozwoliło na wykrycie BSE w Polsce.

Piśmiennictwo

1. Polak M. P., Larska M., Rożek W., Rola J., Żmudziński J. F.: Szybkie testy diagnostyczne stosowane w Polsce w monitoringu BSE. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 767-769.
2. Polak M. P., Rożek W., Żmudziński J. F.: Monitoring BSE w Polsce. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 344-347.
3. Polak M. P., Rożek W., Żmudziński J. F.: Monitoring BSE. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 265-266.
4. Stack M. J., Chaplin M. J., Clark J.: Differentiation of prion protein glycoforms from naturally occurring sheep scrapie, sheep-passaged scrapie strains (CH1641 and SSBP1), bovine spongiform encephalopathy (BSE) cases and Romney and Cheviot breed sheep experimentally inoculated with BSE using two monoclonal antibodies. *Acta Neuropathol.* 2002, 104, 279-286.
5. Truszczyński M., Wijaszka T., Kołodziej P.: 72. Sesja Generalna Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (Office International des Epizooties – OIE). *Medycyna Wet.* 2004, 60, 1010-1012.

Adres autora: dr Mirosław Polak, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy;
e-mail: ppolak@piwet.pulawy.pl

CATTOLI G., VASCELLARI M., CORRÓ M., CAPUA I., MUTINELLI F., SELLS S. F., DONAHUE J. M.: Pierwszy w Europie przypadek nokardialnego zapalenia łożyska wywołanego u koni przez *Crosiella equi*. (First case of equine nocardiform placentitis caused by *Crosiella equi* in Europe). *Vet. Rec.* 154, 730-736, 2004 (23)

Zapalenie łożyska typu nokardialnego opisano po raz pierwszy u koni w USA pod koniec 1980 r. Jest ono wywołane przez różne grupy Gram-dodatnich, rozgałęzionych, nitkowatych bakterii: *Nocardia* sp., *Rhodococcus rubropertinctus* i *Amycolatopsis* sp. W grudniu 2001 r. u 10-miesięcznego płodu zrebęcia poronionego przez 12-letnią klacz wystąpił spadek masy ciała (25 kg), błądź błon śluzowych, przekrwienie bierne narządów wewnętrznych, zgrubienie łożyska o średnicy około 20 cm pokryte brązowym, nekrotycznym śluzoworopnym wysiękiem zawierającym „ziarenka siarki”. W preparatach odciskowych z patologicznie zmienionego odcinka łożyska występowały liczne, rozgałęzione, Gram-dodatnie bakterie ułożone pojedynczo lub w grupach. Badanie histologiczne wątroby i śledziony wykazało miernego stopnia przekrwienie, obrzęk mięśnia serca, martwicę kanalików nerkowych. Z łożyska, wątroby, nerek, płuc i śledziony płodu wyizolowano *Crosiella equi*. Klacz leczono ampicyliną w dawce 20 mg/ml podawaną do pochwty przez 3 kolejne dni.