Monitoring występowania SRLV w stadach owiec zlokalizowanych w środkowo-wschodniej Polsce¹⁾

WIKTOR BOJAR, ANDRZEJ JUNKUSZEW, MONIKA OLECH*,
JACEK KUŹMAK*, KLAUDIUSZ SZCZEPANIAK**

Instytut Hodowli Zwierząt i Ochrony Bioróżnorodności, Wydział Biologii, Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

*Zakład Biochemii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

**Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-950 Lublin

Otrzymano 14.05.2018

Zaakceptowano 05.06.2018

Bojar W., Junkuszew A., Olech M., Kuźmak J., Szczepaniak K. Screening of SRLV in herds in mid-Eastern Poland

Summary

The aim of the study was to evaluate the epidemiological condition of SRLV infections in nucleus flocks of sheep. The surveillance of Lentivirus infections was conducted in sheep flocks from the mid-Eastern part of Poland: the area of Lubelskie, Świętokrzyskie and Podkarpacie provinces. Ninety eight flocks were chosen for a detailed analysis. They included 6,470 mother ewes belonging to 15 breeds and lines: Polish Merino sheep, Polish Lowland sheep, Wielkopolska sheep, Żelazniańska sheep, Uhruska sheep, Olkuska sheep, Polish Heath sheep, Świniarka sheep, Polish Pogorze sheep, Podhale Zackel sheep, Black-headed sheep, Ile de France, Berrichon du Cher, BCP and SCP. The identification of the infected animals and the assessment of the epidemiological condition of the flocks was carried out using a serological analysis of blood serum samples. The assay of MVV-specific antibodies in blood serum was performed using the ELISA test. The results obtained showed that the highest rate of flocks with at least one animal with a positive serological response was in the Podkarpacie Province (71.43%), and the lowest rate (27.03%) was observed in Lubelskie Province. The analysis of the rate of the sheep infected with SRLV indicated that the greatest number of seropositive animals was highest in Podkarpacie Province (19.9%), which corresponds to the results for the flocks, and was significantly higher ($p \leq 0.01$) than in Świętokrzyskie Province (11.35%) and Lubelskie Province (9.20%). The flock size turned out to be a factor which significantly influenced the prevalence of SRLV infections. The prevalence was highest (13.6%) in the flocks exceeding 100 sheep, and decreased together with the decreasing number of heads in the flock. It must be stressed that the problem of SRLV infections is very complex and depends on many factors. Therefore it is necessary to carry out a detailed diagnosis of the factors leading to expansion of the virus in sheep flocks before developing flock protection programs.

Keywords: sheep, SRLV, occurrence, factors

Intensywny chów charakteryzujący się wysoką koncentracją na niewielkiej przestrzeni stwarza duże zagrożenie dla zdrowia zwierząt, którego pogorszenie stanowi jedną z głównych przyczyn zmniejszenia efektów ekonomicznych produkcji (9, 13, 14). Jedną z wielu chorób występujących dość powszechnie w stadach owiec na świecie jest maedi-visna. Wywoływana

jest ona przez wirus maedi-visna (MVV) z rodzaju Lentivirus, z rodziny Retroviridae, obecnie określany jako wirus małych przeżuwaczy (SRLV). Powoduje on zamiany zapalne i zwyrodnieniowe w mózgu, płucach, stawach oraz gruczołach mlecznych owiec i kóz, w konsekwencji prowadząc do śmierci zwierzęcia. Zakażenie prowadzi do powolnego wyniszczenia organizmu i strat związanych ze zwiększoną śmiertelnością, która może sięgać nawet 20-30% (15), rodzeniem lżejszych jagniąt (2, 6) czy też pogorszeniem jakości oraz ilości produkowanego mleka (11, 19, 24). Istotną konsekwencją zakażeń SRLV jest upośledzenie funk-

¹⁾ Praca wykonana w ramach projektu „Kierunki wykorzystania oraz ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich w warunkach zrównoważonego rozwoju” współfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Strategicznego programu badań naukowych i prac rozwojowych „Środowisko naturalne, rolnictwo i leśnictwo” – BIOSTRATEG, nr umowy: BIOSTRATEG2/297267/14/NCBR/2016.

cji obronnych organizmu (23), co sprzyja wtórnym infekcjom. Badania monitoringowe przeprowadzone w ostatnim dwudziestolecu wskazują na stale zwiększające na świecie rozprzestrzenianie wirusa SRLV (4, 27). W Polsce szacuje się, że problemem tym dotkniętych jest około 60% stad owiec (17). Pozwala to na lokalizację Polski w grupie takich krajów, jak Włochy, Holandia czy Hiszpania, gdzie w niektórych rejonach, np. w Hiszpanii, obecność seroreagentów stwierdzono w 95-99% stad, a odsetek zakażonych zwierząt waha się od 39% do 52% (1, 3). Mnogość dróg rozprzestrzeniania się choroby maedi-visna powoduje trudności w opracowaniu skutecznych i kompleksowych metod jej eliminacji. Do najskuteczniejszych należą programy oparte na badaniach serologicznych prowadzonych od szóstego miesiąca życia z częstotnością co pół roku. Zwierzęta o seropozytywnym odczynie na obecność SRLV są brakowane (31). W innych krajach w praktyce hodowlanej stosowane są programy uwalniania stad od wirusa SRLV z zastosowaniem mniej radykalnych środków (10, 19), które stopniowo eliminują lub ograniczają ekspozycję wirusa. Należy jednak podkreślić, że kluczową rolę w każdej strategii zmierzającej do eliminacji SRLV ze stad odgrywa monitoring statusu serologicznego zwierząt.

Celem badań była ocena stanu epidemiologicznego zakażeń SRLV w stadach zarodowych znajdujących się na obszarze południowo-wschodniej Polski.

Materiał i metody

Monitoring zakażeń lentiwirusami przeprowadzono w stadach owiec usytuowanych w środkowo-wschodniej części Polski, obejmujących województwa: lubelskie, świętokrzyskie i podkarpackie. Do badań szczegółowych wybrano 98 stad. Utrzymywanych w nich było 6470 matek.

Identyfikacja zakażonych zwierząt i ocena stanu epidemiologicznego w poszczególnych stadach została wykonana w oparciu o badanie serologiczne próbek surowicy krwi. Oznaczanie swoistych przeciwciał dla MVV wykonano przy użyciu testu ELISA (Montpellier, France), zgodnie z zaleceniami producenta. Zgodnie z deklaracją producenta, czułość i swoistość diagnostyczna wynoszą, odpowiednio, 99,8% i 99,7%.

W przeprowadzonych badaniach dokonano stratyfikacji stad (8, 20, 29), której celem było określenie prevalencji zakażeń lentiwirusami bez konieczności zbadania wszystkich zwierząt. Umożliwiło to zaplanowanie liczby pobranych próbek uwzględniających możliwości analityczne w zależności od struktury stad typowej dla regionu objętego badaniami i z góry założoną dokładnością, która odzwierciedla błąd pomiaru. Przy projektowaniu badania w celu poprawy efektywności stratyfikacji użyto modelu pobierania prób losowania klastrowo-warstwowego (26). Stada podzielono na grupy zwane klastrami, związane z ich liczebnością: małe, średnie i duże. Wyliczono, jaką liczbę zwierząt trzeba zbadać ze stad zaliczonych do danego klastra z dokładnością określenia poziomu zakażenia wewnątrz stada nie gorszą niż 8%. W wyniku obliczeń wytypowano pobranie próbek surowic od 2924 owiec, z łącznej populacji 6470 matek,

utrzymywanych w 98 stadach zarodowych o zróżnicowanej liczebności. Odsetek zwierząt, od których pobrano próbki surowicy, w poszczególnych stadach był zmienny i zależał od liczebności stada. W wyniku stratyfikacji w małych stadach (do 11 owiec) pobierano surowicę od wszystkich zwierząt, w stadach uznanych za duże (powyżej 100 osobników) od około 30% owiec.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy wykorzystaniu testu chi-kwadrat. Obliczeń dokonano za pomocą programu statystycznego „R”, przy użyciu modułu „epir” (30).

Wyniki i omówienie

Na podstawie uzyskanych wyników wykazano, że najwyższy odsetek stad, w których stwierdzono przynajmniej jedno zwierzę seropozytywne (ryc. 1) był w województwie podkarpackim (71,43%) natomiast najniższy w lubelskim (27,03%). Różnice te okazały się statystycznie istotne ($p \leq 0,05$). W województwie świętokrzyskim odsetek seroreagentów nie różnił się statystycznie w porównaniu do pozostałych analizowanych obszarów i kształtował się na poziomie 35,3%. Analiza odsetka populacji owiec zakażonych SRLV (ryc. 2) wykazała, że najwięcej zwierząt o stwierdzonym pozytywnym odczynie było, podobnie jak

Ryc. 1. Procentowy udział stad serologicznie dodatnich w badanych województwach

Objaśnienia: Wartości oznaczone różnymi literami różnią się istotnie ^{a, b} – $p \leq 0,05$, ^{A, B} – $p \leq 0,01$

Ryc. 2. Prewalencja SRLV w badanych województwach

Objaśnienia: jak na ryc. 1.

w przypadku stad, w województwie podkarpackim (19,9%) i wartość ta była statystycznie istotnie wyższa ($p \leq 0,01$) w porównaniu do województwa świętokrzyskiego (11,35%) i lubelskiego (9,20%). W dotychczas przeprowadzonych badaniach epidemiologicznych na terenie Polski odsetek zwierząt, u których stwierdzono występowanie przeciwciał w kierunku SRLV był zróżnicowany w zależności od okresu, a także rejonu, w którym przeprowadzono monitoring. Dla przykładu: w badaniach wykonanych na początku lat 90. przez Kołodzieja i wsp. (16) w grupie 1000 dorosłych owiec z terenu dolnośląskiego średni odsetek zakażeń SRLV wyniósł 54% z wahaniami od 30% do 73%. Późniejsze badania Kuźmaka i wsp. (17) wykonane w różnych rejonach Polski wykazały wysoki odsetek seroreagentów wynoszący średnio około 60%. Wyniki badań przeprowadzone w latach 2007-2009 przez Państwowy Instytut Weterynarii – PIB, opublikowane przez Olech i wsp. (22), wykazały występowanie odczynów seropozytywnych średnio u około 18% zwierząt spośród 9072 badanych, pochodzących z 1028 stad. Największy odsetek seroreagentów zanotowano w województwach małopolskim, dolnośląskim i kujawsko-pomorskim: od 25,6% do 39,0%; najmniejszy w łódzkim, lubelskim i mazowieckim (3,3-5,7%). Należy jednak zwrócić uwagę na zmiany struktury rasowej owiec, jakie odnotowano szczególnie w ostatnich latach na terenie Polski, spowodowane wzrostem zainteresowania rasami objętymi ochroną zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich. Powyższe uwarunkowania mogły mieć wpływ na różnice, jakie odnotowano pomiędzy rezultatami monitoringu zakażeń SRLV przeprowadzonego przez wymienionych powyżej badaczy. Na zaistniałe różnice mogła mieć także wpływ wielkość stada, szczególnie że rejon środkowo-wschodniej Polski charakteryzuje się mniejszymi liczebnie stadami w porównaniu do pozostałych województw (25). Jak wynika z rezultatów badania przedstawionych w tab. 1, wielkość stada może mieć wpływ na wzrost liczby zakażeń SRLV. Warto zwrócić uwagę, że w gospodarstwach utrzymujących 100 lub więcej owiec odsetek stad, w których stwierdzono co najmniej jeden przypadek zwierzęcia o odczynie seropozytywnym, kształtował się na poziomie 52,9%. Natomiast w stadach mniejszych odsetek takich stad był niższy i przyjmował wartości od 23,3% (od 20 do 49 owiec) do 33,3% (od 1 do 9 owiec). Brak odnotowanych statystycznie istotnych różnic można

tłumaczyć dużym zróżnicowaniem liczby stad owiec w poszczególnych grupach (tab. 1). Natomiast takie różnice odnotowano już w przypadku analizy liczby zwierząt seropozytywnych w stadach. Najwyższy poziom owiec o odczynie dodatnim został stwierdzony w stadach utrzymujących 100 i więcej owiec (13,6%), natomiast najniższy w stadach liczących od 1 do 20 owiec (2,8%). Należy zauważyć, że w przypadku analizy prewalencji we wszystkich przypadkach następował wzrost wartości odsetka zakażonych zwierząt wraz ze wzrostem wielkości stada. Na pewno jedną z przyczyn opisanej powyżej sytuacji jest większa koncentracja zwierząt ułatwiająca zakażenia pomiędzy zwierzętami (7, 13, 18). Inną z przyczyn zwiększającą ryzyko wystąpienia SRLV w stadach owiec liczących więcej sztuk jest polityka zarządzaniem produkcją zwierzęcą w tych gospodarstwach. Na wymienione uwarunkowania zwracają uwagę niektórzy autorzy (7, 18, 28), wskazując, że właśnie to może być przyczyną ułatwiającą transmisję poziomą wirusa w stadach owiec. Omawiając zagadnienie związane z zarządzaniem produkcją zwierzęcą w dużych stadach owiec należy także zwrócić szczególną uwagę na fakt, że w takich gospodarstwach dominuje tendencja do skracania okresu wykotów, co z pewnością podyktowane jest względami ekonomicznymi. Ustawienie wyrównanych wiekowo grup ułatwia obsługę oraz prawidłowe dokarmianie jagniąt, szczególnie w pierwszych miesiącach odchowu. Niestety, wyrównane wiekowo grupy niosą ryzyko zwiększenia często spotykanego w chowie i hodowli owiec zjawiska podkradania mleka od obcych matek przez jagnięta. Prawdopodobnie może to sprzyjać rozprzestrzenianiu się SRLV w dużych stadach owiec, szczególnie, że, jak podają Brodie i wsp. (4) oraz Straub (31), mleko matki może być źródłem zakażeń. Często pomijanym czynnikiem, który sprzyja zwiększeniu podatności na różnego rodzaju choroby, jest stres zwierząt (5, 12, 21). Reakcjom stresowym sprzyja większe zagęszczenie zwierząt, co może być konsekwencją m.in. rywalizacji zwierząt o pozycję w grupie.

Analiza występowania wirusa lentiwirusa małych przeżuwaczy w stadach owiec zlokalizowanych na terenie środkowo-wschodniej Polski wykazała duże zróżnicowanie pomiędzy badanymi obszarami. Zaistniała sytuacja w głównej mierze wynikała ze zróżnicowanej liczebności stad w poszczególnych

Tab. 1. Poziom zakażenia stad zarodowych w południowo-wschodnim regionie Polski w zależności od ich liczebności

Wielkość stada	Liczba zbadanych stad	Stada seropozytywne	Prewalencja	Liczba zbadanych zwierząt	Liczba próbek seropozytywnych	Prewalencja
1-19	6	2	33,3%	72	2	2,8% ^a
20-49	30	7	23,3%	670	45	6,7% ^{Aa}
50-99	45	14	31,1%	1310	132	10,1% ^b
≥ 100	17	9	52,9%	873	119	13,6% ^{Bc}
Razem	98	32	32,65%	2925	298	10,19%

Objaśnienie: średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie w kierunku pionowym – a, b przy $p \leq 0,05$; A, B przy $p \leq 0,01$

województwach. Rezultaty niniejszych obserwacji jednoznacznie wykazują, że poziom zakażenia SRLV wzrasta wraz z liczbą zwierząt utrzymywanych w stadzie. W związku z powyższym przy tworzeniu programów eradykacji wirusa należy zwrócić szczególną uwagę na liczebność owiec w stadach jako czynnika zwiększającego ryzyko zakażeń SRLV.

Piśmiennictwo

- Alba A., Allepuz A., Serrano E., Casal J.: Seroprevalence and spatial distribution of maedi-visna virus and pestiviruses in Catalonia (Spain). *Small Rumin. Res.* 2008, 78, 80-86.
- Arsenault Dubreuil P., Girard CH., Simard C., Belanger D.: Maedi-visna impact on productivity in Quebec sheep flocks (Canada). *Prev. Vet. Med.* 2003, 50, 125-137.
- Berriatua E., Alvares V., Extramiana B., Gonzales L., Daltabuit M., Juste R.: Transmission and control implications of seroconversion to Maedi-Visna virus in Basque dairy-sheep flocks. *Prev. Vet. Med.* 2003, 60, 265-279.
- Brodie S., Concha-Bermejillo A., Snowden G., Demartini J.: Current concepts in the epizootiology, diagnosis and economic importance of ovine progressive pneumonia in North America. *Small Rumin. Res.* 1998, 27, 1-17.
- Broom D. M.: Animal welfare measurement in pigs. *Proc. 47th Ann. Meeting EAAP Lillehammer Norway*. Wageningen Pers Publ., Wageningen, Netherlands 1996, 133.
- Calavas D., Bugnard F., Ducrot C., Sulpice P.: Classification of clinical types of ovine disease affecting nursing ewes. *Small Rumin. Res.* 1998, 29, 21-31.
- Christodoulouopoulos G.: Maedi-Visna: clinical review and short reference on the disease status in mediterranean countries. *Small Rumin. Res.* 2006, 62, 47-53.
- Cochran W. G.: Sampling Techniques. John Wiley & Sons, Harvard University 1977.
- Dudko P., Junkuszew A., Bojar W., Milerski M., Szczepaniak K., Le Scouarnec J., Schmidová J., Tomczuk K., Grzybek M.: Effect of dietary supplementation with preparation comprising the blend of essential oil from *Origanum vulgare* (Lamiaceae) and *Citrus* spp. (Citraceae) on coccidia invasion and lamb growth. *Ital. J. Anim. Sci.* 2018, 17, 57-65.
- Ganter M.: Veterinary consultancy and health schemes in sheep: Experiences and reflections from a local German outlook. *Small Rumin. Res.* 2008, 76, 55-67.
- Greenwood P. L.: Effects of caprine arthritis-encephalitis virus on productivity and health of dairy goats in New-South-Wales, Australia. *Prev. Vet. Med.* 1995, 22, 71-87.
- Junkuszew A.: Growth and slaughter value of lambs from a maedi visna virus infected sheep flock. *Rozpr. Nauk. UP w Lublinie*, nr 344. Wyd. Uniw. Przyrod., Lublin 2010.
- Junkuszew A., Dudko P., Bojar W., Olech M., Osiński Z., Gruszecki T. M., Greguła Kania M., Kuźmak J., Czerski G.: Risk factors associated with small Rumin. lentivirus infection in eastern Poland sheep flocks. *Prev. Vet. Med.* 2016, 127, 44-49.
- Junkuszew A., Milerski M., Bojar W., Szczepaniak K., Le Scouarnec J., Tomczuk K., Dudko P., Studzińska M. B., Demkowska-Kutrzepa M., Bracik K.: Effect of various antiparasitic treatments on lamb growth and mortality. *Small Rumin. Res.* 2015, 123, 305-312.
- Keen J., Hungerford L., Wittum T., Kwang J., Littlelike E. T.: Risk factors for seroprevalence of ovine lentivirus in breeding ewe flocks in Nebraska USA. *Prev. Vet. Med.* 1997, 30, 81-94.
- Kolodziej P., Klimientowski S.: Metody zapobiegania i zwalczania choroby Maedi-Visna owiec. *Przeg. Hod.* 1995, 63, 20-21.
- Kuźmak J., Kozaczyńska B., Rola M.: Application and evaluation of serological methods in the diagnosis of maedi-visna infection in sheep from Poland. *Med. Weter.* 2002, 58, 444-447.
- Leginagoikoa I., Daltabuit-Test M., Álvarez V., Arranz J., Juste R., Amorena B., de Andrés D., Luján L., Badiola J., Berriatua E.: Horizontal Maedi-Visna virus (MVV) infection in adult dairy-sheep raised under varying MVV-infection pressures investigated by ELISA and PCR. *Res. Vet. Sci.* 2006, 80, 235-241.
- Lipecka Cz., Kuźmak J., Gruszecki T. M., Kozaczyńska B., Junkuszew A., Szymanowska A., Szymanowski M.: Fizjologiczna i produkcyjna reakcja organizmu owiec wykazujących obecność wirusa maedi-visna. *Sprawozdanie Merytoryczne z Projektu badawczego nr 2 P06Z 009 29*, UP, Lublin 2009.
- Lohr S. L.: Sampling: Design and Analysis. Cengage Learning Inc., Boston 2009, s. 608.
- Noordhuizen J. P. T. M., Frankena K.: Epidemiology and quality assurance: applications at farm level. *Prev. Vet. Med.* 1999, 39, 93-110.
- Olech M., Kuźmak J.: Nowe dane na temat zakażeń lentivirusami małych przeżuwaczy. *Med. Weter.* 2011, 67, 458-461.
- Pepin M., Vitu C., Russo P.: Maedi-visna infection in sheep a review. *Vet. Res.* 1998, 29, 341-367.
- Peterhans E., Greenland T., Badiola J., Harkiss G., Bertoni G., Amorena B., Eliasiewicz M., Juste R. A., Krassnig R., Lafont J. P., Lenihan P., Petursson G., Pritchard G., Thorley J., Vitu C., Mornex J. F., Pepin M.: Routes of transmission and consequences of small Rumin. lentiviruses (SRLVs) infection and eradication schemes. *Vet. Res.* 2004, 35, 257-274.
- PZO: Hodowla owiec i kóz w Polsce – lata 2003-2014. Wyd. Polskiego Związku Owcarskiego 2015.
- Rothman K. J.: Epidemiology An Introduction. Oxford University Press, London 2002, pp. 130-143.
- Sihvonen L., Hirvela-Koski V., Noutio L., Kokkonen U.: Serological survey and epidemiological investigation of maedi-visna in sheep in Finland. *Vet. Microbiol.* 1999, 65, 265-270.
- Simard C., Morley R.: Seroprevalence of Maedi-Visna in canadian sheep. *Can. J. Vet. Res.* 1991, 55, 269.
- Stevenson M.: An Introduction to Veterinary Epidemiology. EpiCentre, IVABS, Massey University, Palmerston North, New Zealand 2006, 91.
- Stevenson M., Heuer C.: Functions for Analysing Epidemiological Data Package 'epiR'. EpiCentre, IVABS, Massey University, Palmerston North, New Zealand 2012, s. 74.
- Straub O.: Maedi-visna virus infection in sheep: history and present knowledge. *Comp. Immune. Microbiol. Infec. Dis.* 2004, 27, 1-5.

Adres autora: dr hab. Andrzej Junkuszew, prof. nadzw., ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: andrzej.junkuszew@up.lublin.pl