Sytuacja epizootyczna choroby niebieskiego języka w Europie – zagrożenia związane z importem zwierząt ze stref zamkniętych ze względu na jej występowanie

ANNA ORŁOWSKA, MARCIN SMRECZAK, JERZY ROLA

Zakład Wirusologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 18.12.2018

Zaakceptowano 15.01.2019

Orłowska A., Smreczak M., Rola J.

Bluetongue in Europe – the risk of animal import from restricted zones

Summary

Bluetongue (BT) is a vector-borne viral disease effecting ruminants caused by bluetongue virus (BTV), transmitted mainly by bites from midges of the genus *Culicoides*. Since the end of 20th century, BTV is endemic in several European countries and the disease is caused mainly by BTV-8 and BTV-4 infections. Bluetongue virus is characterized by high genetic diversity. To date, over 29 BTV serotypes have been documented, including recently discovered atypical serotypes BTV (25-27). The disease has a high economic impact as it causes economic losses due to animal mortality, reduced productivity and restrictions on the movement of animals. Several reports and numerous observations indicate the contribution of animal movements to the spread of BTV infections. Thus, bluetongue surveillance that includes testing of sentinel animals as well as virological testing of animals susceptible to BTV infection imported from restricted zones due to the presence of BTV is a key factor in maintaining a BT-free status.

Keywords: bluetongue, Europe, epidemiology, restricted zones

Choroba niebieskiego języka (bluetongue, BT) jest ostrą wirusową chorobą przeżuwaczy, głównie owiec i bydła, wywoływaną przez wirus choroby niebieskiego języka (bluetongue virus, BTV). Zakażenia BTV przebiegające z wystąpieniem objawów klinicznych obserwuje się głównie u owiec podczas gdy u bydła choroba przebiega subklinicznie. Klinika zakażeń BTV obejmuje przekrwienie i obrzęk warg, powiek, uszu przestrzeni międzyżuchwowej oraz języka, który często wystaje poza jamę gębową zwierząt i w skrajnych przypadkach choroby może przybierać barwę siną. Przekrwienie dotyczy również pozostałych części ciała w szczególności pachwin i okolic krocza, ale także kończyn, w tym kopyt. U zwierząt obserwuje się również procesy zapalne oraz zwyrodnienie mięśni, przez co zwierzęta mają trudności w poruszaniu się.

BT szerzy się przy udziale wektora, krwiopijnych muchówek z rodzaju *Culicoides*, potocznie nazywanych kuczmanami. Choroba występuje sezonowo, ze szczytem zachorowań przypadającym na wilgotne oraz gorące lato. Wektor rozprzestrzeniony jest na terenie Europy od południowej Hiszpanii po północną Skandynawię, z aktywnością przypadającą w okresie od marca do grudnia. W Europie stwierdzono występowanie co najmniej 83 gatunków *Culicoides*, ale tylko niektóre z nich biorą

udział w transmisji BTV. Początkowo za główny wektor wirusa BT uważano afrotropikalny gatunek *C. imicola*, chociaż wirus był również izolowany od *C. obsoletus*/*C. scoticus* oraz *C. pulicaris* (5).

Wirus choroby niebieskiego języka po raz pierwszy został wykryty w południowej Afryce, a jego występowanie, jak do niedawna sądzono, ograniczone było do strefy klimatu tropikalnego i subtropikalnego, obszarów położonych pomiędzy 50. równoleżnikiem na północ a 35. na południe szerokości geograficznej. W Europie zachorowania u zwierząt wywołane przez BTV pojawiły się w basenie Morza Śródziemnego w drugiej połowie XX w. i stanowiły pojedyncze epizootie występujące w Hiszpanii i Portugalii (1956-1960), na Cyprze (1977) oraz w Grecji (1979) (15). Sytuacja epizootyczna BT uległa zmianie po 1998 r., od kiedy choroba występuje endemicznie na kontynencie europejskim. W 1998 r. w basenie Morza Śródziemnego, w krajach, w których BTV występował sporadycznie lub nie był stwierdzany, pojawiły się serotypy BTV-1, 2, 4, 9 i 16 (1). Przypadki choroby wywołane były przez wirusy pochodzące z dwóch niezależnych źródeł. Od wschodu szerzyły się serotypy 1, 4, 9 i 16 BTV, które pierwotnie wywoływały zachorowania u zwierząt w Grecji, a następnie rozprzestrzeniły się na zachód. Serotyp 4 BTV swoim zasięgiem

w 2004 r. objął tereny Maroka, Hiszpanii i Portugalii. Równocześnie od południa, z Afryki (Tunezja) wniknął do Europy serotyp BTV-2, który rozprzestrzenił się na terytorium Włoch (Sardynia), Hiszpanii (Majorka) i Francji (Korsyka) (24).

Epizootie BTV-8 w Europie

W sierpniu 2006 r. w Zachodniej Europie na granicy państw Holandia/Belgia/Niemcy wykryto serotyp BTV-8, głównie u bydła, ale również u małych przeżuwaczy. Początkowo choroba przebiegała łagodnie i nie powodowała dużych strat ekonomicznych, jednakże w przeciągu kilkunastu miesięcy wirus rozprzestrzenił się na północ, obejmując swoim zasięgiem terytorium od zachodniej Francji do Wielkiej Brytanii, gdzie odnotowano postacie choroby o przebiegu ciężkim. Za rozprzestrzenianie się wirusa odpowiedzialne były autochtoniczne gatunki *Culicoides* z podrodzaju *Avaritia*, a w szczególności *C. obsoletus*/*C. scoticus* oraz *C. dewulfi* i *C. chiopterus* (1). Do chwili obecnej źródło pochodzenia BTV-8 w Europie Zachodniej nie zostało ustalone. Epizootia BT spowodowała ogromne straty ekonomiczne w krajach dotkniętych chorobą, jako wynik zwiększonej śmiertelności zwierząt, obniżonej produktywności oraz zakazu przemieszczania zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV. Duże nakłady finansowe zostały przeznaczone również na immunizację zwierząt w celu ograniczenia choroby, która w 2009 r. objęła swoim zasięgiem obszar całej Francji, Hiszpanii, Niemiec i Wielkiej Brytanii. Dzięki wprowadzonym obowiązkowym, masowym szczepieniom zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV, jak również nabytej naturalnej odporności po kontakcie z wirusem, epizootia wywołana BTV-8 została opanowana w większości dotkniętych chorobą krajów w przeciągu kilku lat. Komisja Europejska za pierwsze kraje „wolne od BT” uznała Wielką Brytanię, Belgię, Holandię, Niemcy i Szwajcarię, jako że kraje te dzięki prowadzonemu monitoringowi BTV udokumentowały brak występowania wirusa na swoim terytorium przez okres co najmniej dwóch lat (1). Francja status kraju wolnego od BTV uzyskała w grudniu 2012 r. Został on utrzymany do sierpnia 2015 r., kiedy w środkowej Francji, w prowincji Allier, wykryto materiał genetyczny BTV-8 u owcy z wyraźnie zaznaczonymi objawami klinicznymi BT (20). Wirus pojawił się ponownie niespodziewanie, a jego pochodzenie, podobnie jak źródło BTV-8 krążącego w latach 2006-2008 w Europie, nie zostało jednoznacznie określone. Jedną z hipotez zakłada, że BTV-8 występował w środowisku, wywołując zakażenia u niewielkiej liczby sztuk bydła lub krążył jedynie u przeżuwaczy wolno żyjących, przez co niemożliwe było jego wykrycie w ramach prowadzonego monitoringu BTV. W sprzyjających warunkach uległ on ponownej aktywacji, powodując liczne zachorowania zwierząt (20). Hipoteza ta wydaje się wiarygodna i jest poparta wysokim podobieństwem genetycznym sięgającym 100% pomiędzy izolatami BTV-8 wykrytymi w 2015 r. a izolatami BTV-8 krążącymi

na terenie Francji w latach 2006-2008 (4). Istotnym czynnikiem sprzyjającym ponownemu pojawieniu się BTV-8 mógł być niski poziom odporności swoistej populacji francuskich zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV. Obowiązkowe szczepienia przeciwko BTV-8 w pełni finansowane przez państwo prowadzone były we Francji w dwóch akcjach w latach 2008-2010, a przez kolejne dwa lata szczepienia prowadzone były jedynie dobrowolnie na koszt właścicieli zwierząt, co w znacznym stopniu mogło mieć wpływ na odsetek zaszczepionych zwierząt. Od 2013 r., po uzyskaniu statusu „kraju wolnego od BT” władze francuskie zakazały szczepień przeciwko BTV, a wprowadziły w życie program nadzoru nad BT zgodnie z prawodawstwem Unii Europejskiej (Dyrektywa 2000/75 oraz rozporządzenie KE 1266/2007) (2). Zgodnie z raportem panelu naukowego ds. zdrowia i dobrostanu zwierząt Europejskiego Urzędu Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) z 18 stycznia 2018 r., szczepienie zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV nawet przez 3 kolejne lata na poziomie 95% populacji zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV nie eliminuje BTV ze środowiska. Zatem stosowana przez trzy kolejne lata nieprzerwana immunizacja przeżuwaczy przeciwko BTV nie prowadzi do eliminacji choroby (<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4698>). Biorąc za przykład Francję, choroba pojawiła się ponownie po upływie trzech lat i dwóch miesięcy.

Izolat BTV-8 wykryty w środkowej Francji w 2015 r. krąży do chwili obecnej na terenie kraju, zwłaszcza w centralnej i środkowo-wschodniej części Francji. Do chwili obecnej odnotowano ponad 4000 zakażonych stad, mimo iż eksperymentalne zakażenie owiec serotypem BTV-8 wykrytym w 2015 r. w Europie wykazało, że wirus ten charakteryzuje się ograniczoną zdolnością do wywoływania zakażenia oraz obniżoną zdolnością do namnażania się w wektorze owadzi w porównaniu do BTV-8 krążącego w latach 2006-2008 (<https://doi.org/10.1101/469460>).

W październiku 2017 r. materiał genetyczny BTV-8 wykryto u dwóch sztuk bydła pochodzącego z dwóch niezależnych gospodarstw mieszczących się w północno-zachodniej Szwajcarii przy granicy z Francją i Niemcami. Zwierzęta klinicznie wyglądały na zdrowe, a próbki pobierane były w rzeźni przy uboju w ramach prowadzonego monitoringu BTV. Podjęty przez władze Szwajcarii zintensyfikowany nadzór administracyjny nad BT, przeprowadzony w obydwu gospodarstwach, nie wykazał występowania wirusa u innych sztuk bydła pozostającego w obu gospodarstwach, z których pochodziły zwierzęta badane podczas uboju. Na początku września 2018 r. stwierdzono kolejny przypadek choroby wywołany BTV-8 u mlecznej krowy, z lekkimi objawami wskazującymi na chorobę niebieskiego języka, przy granicy z Francją. Wzmocniony monitoring BTV przeprowadzony w następstwie wykrycia choroby wykazał występowanie BTV-8 u bydła i owiec na obszarze całej Szwajcarii (9).

BT w Europie po 2011 r.

Pomimo korzystnej sytuacji epizootycznej w 2011 r. w odniesieniu do BTV-8 w Europie w latach następnych stwierdzono kilka epizootii BT wywołanych głównie przez serotypy 1 i 4 BTV. Na Korsyce, Sardynii i Sycylii, jak również w środkowych Włoszech wykryto ogniska choroby wywołane BTV-1. Wirus krążył w latach 2012-2013, jednakże nie szerzył się tak dynamicznie i ekspansywnie, jak serotyp BTV-8 podczas epizootii BT w północno-zachodniej Europie. Kolejnym serotypem BTV stwierdzonym w Europie był „atypowy” BTV-27 wykryty w 2014 r. na Korsyce, który wykazywał bliskie pokrewieństwo filogenetyczne z wcześniej wykrytymi serotypami BTV-25 i BTV-26. BTV-25 po raz pierwszy został stwierdzony w Szwajcarii u kóz w rejonie Toggenburg, podczas gdy BTV-26 wykryto w Kuwejcie u owiec, z wyraźnie zaznaczonymi objawami klinicznymi choroby (7, 12). Poczynione obserwacje oraz doświadczenia na zwierzętach wykazały, że szerzenie się BTV-25 w populacji kóz nie wymaga udziału wektora (7). Serotypy BTV-25 do 27 określane są jako „atypowe” BTV ze względu na ich szczególną charakterystykę fenotypową *in vitro* i *in vivo*. Posiadają one cechy, które nie zostały udokumentowane dla „typowych” 24 serotypów BTV. Dla przykładu: BTV-25 nie namnaża się w hodowli komórek ssaków lub owadziej i może utrzymywać się znacznie dłużej (do 25 miesięcy) u zakażonych kóz w porównaniu do innych serotypów BTV (wiremia do 222 dni od zakażenia). BTV-26 nie namnaża się w eksperymentalnie zakażonych *Culicoides* (*C.*) *sonorensis* oraz w komórkach owadziej (KC), ale replikuje w komórkach ssaków. W odniesieniu do transmisji wirusa w przypadku braku wektora *Culicoides* BTV-26 przenoszony jest poziomo pomiędzy kozami (19). W sierpniu 2018 r. przypadki BT wywołane przez atypowy serotyp BTV-25 wykryto w Niemczech u dwóch kóz podczas wykonywania badań przed eksportem w ramach handlu wewnątrzwspólnotowego (17). Atypowe przypadki BTV zostały wykryte również poza Europą, w tym w Mauretanii i Mongolii (17). Najprawdopodobniej kolejny, nowy, atypowy serotyp BTV został wykryty w 2015 r. na Sardynii w ramach badań monitoringowych (21). Do chwili obecnej nie został on sklasyfikowany, wykazuje jednak najbliższe pokrewieństwo do atypowych szczepów BTV-25, BTV-26 oraz BTV-27 spośród wyodrębnionych serotypów BTV. Z drugiej strony, jest on na tyle odległy (homologia poniżej 75%), by tworzyć odrębny serotyp BTV (21). Na Sardynii aktualnie występuje również serotyp 3 BTV, który przywędrował z Tunezji. Wirus pojawił się w Tunezji w grudniu 2016 r. skąd rozprzestrzenił się do Włoch, tj. zachodniej Sycylii i na Sardynię (10, 22).

W krajach nadbałtyckich w ramach prowadzonego monitoringu BTV oraz wykonywanych badań wirusologicznych związanych z importem zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV, wykryto materiał genetyczny BTV-14 u bydła w Rosji (Smoleńsk, 2011),

Polsce (woj. podlaskie i warmińsko-mazurskie, 2011-2014), na Litwie (2011), Łotwie (2012), w Estonii (2012) i Finlandii (2012) (14-16). Serotyp ten poddano charakterystyce w celu określenia kinetyki przebiegu zakażenia oraz obrazu klinicznego poprzez eksperymentalne zakażenie owiec izolatami pochodzącymi z Polski (POL2012/01) (6). Na podstawie analizy danych dotyczących braku objawów klinicznych u zwierząt, niskiego wskaźnika seropozytywności wewnątrz stada oraz wysokiego podobieństwa sekwencji nukleotydowych w obrębie segmentu 2 BTV (podobieństwo > 99%) terenowych izolatów do szczepu referencyjnego używanego do produkcji szczepionek przeciwko BTV-14 dotknięte państwa członkowskie zgodnie z decyzją KE oraz unijnego laboratorium referencyjnego ds. choroby niebieskiego języka nie doświadczyły wybuchu choroby, a miały do czynienia z incydem związanym ze szczepem szczepionkowym. Ponadto serotyp ten nie rozprzestrzenił się w terenie tak szybko, jak inne serotypy BTV, m.in. BTV-8. Zatem państwa, w których stwierdzono występowanie BTV-14, w tym Polska, nie utraciły statusu krajów wolnych od BT.

Epizootia BTV-4 w Europie

Ogniska BT związane z serotypem 4 BTV w Europie odnotowano po raz pierwszy na wyspach greckich pod koniec lat siedemdziesiątych. Wirus pojawił się ponownie w Grecji w 1998 r. i przez dwa kolejne lata krążył na jej terenie oraz terytorium sąsiadujących od wschodu Bułgarii i Turcji. Ogniska BT wywołane były przez szczepy charakterystyczne dla wschodnich krajów basenu Morza Śródziemnego. Począwszy od połowy 2000 r. BTV-4 występował również w zachodnich krajach śródziemnomorskich, w tym we Włoszech, Francji, Hiszpanii oraz Portugalii, gdzie ogniska BT wywołane były przez odrębną grupę filogenetyczną BTV-4, charakterystyczną dla zachodniego regionu Morza Śródziemnego (3, 11).

W czerwcu 2014 r. wirus pojawił się w południowej Grecji na półwyspie Peloponez, a następnie rozprzestrzenił się na Bałkany oraz na Włochy, Bułgarię, Macedonię, Albanię, Węgry i Rumunię. Pierwszy przypadek zachorowań wywołanych BTV-4 w Rumunii potwierdzono 23 sierpnia 2014 r. w południowo-wschodniej części kraju w powiecie Buzau (https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/animals/docs/reg-com_ahw_20140911_pres_bt_romania.pdf). W przeciągu dwóch miesięcy chorobę zarejestrowano w 31 z 42 (73,81%) jednostek administracyjnych Rumunii, a zintensyfikowany aktywny monitoring BTV wykazał seroprevalencję na poziomie 79,8%. Materiał genetyczny BTV-4 wykryto u 2002 z 2334 (85,8%) przebadanych zwierząt. Jesienią 2014 r. w ramach prowadzonego monitoringu BTV wirus wykryto w kilku hrabstwach Węgier, głównie położonych na południu i wschodzie kraju (8). Następstwem pojawienia się BTV-4 na Węgrzech było wykrycie w listopadzie 2015 r., w ramach monitoringu BTV, czterech ognisk BTV-4 w zachodniej Austrii przy granicy

z Węgrami (https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/animals/docs/reg-com_ahw_20170117_pres_bt_aut.pdf) oraz w Słowenii (https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/animals/docs/reg-com_ahw_20160112_pres_bt-slovenia.pdf). Jesienią 2016 r. Komisja Europejska poinformowała o wykryciu BTV-4 u kozy z subklinicznym przebiegiem choroby na Sardynii, skąd wirus rozprzestrzenił się na Korsykę. Materiał genetyczny BTV-4 na Korsyce wykryto w grudniu 2016 r., u owcy z wyraźnymi objawami klinicznymi choroby niebieskiego języka. (18). Szerzenie się wirusa zostało ograniczone w sezonie zimowym. Niskie temperatury zahamowały replikację wirusa w wektorze owadzi, jednakże wirus „przeżył” w środowisku i wznowił swoją aktywność w czerwcu 2017 r., zakażając nieszczepione bydło, owce i kozy na terenie Korsyki. W przeciągu trzech miesięcy (do końca września 2017 r.) ogniska choroby stwierdzono w 172 fermach. Równolegle BTV-4 ekspansywnie rozprzestrzenił się we Włoszech, w wyniku czego w całym kraju wprowadzono strefy zamknięte z ograniczeniami w przemieszczaniu się zwierząt gatunków wrażliwych. Pod koniec 2017 r. (6 listopada 2017 r.) wirus dotarł do Francji, gdzie materiał genetyczny BTV-4 wykryto u dwutygodniowego cielaka, z regionu Haute-Savoie przy granicy ze Szwajcarią, poddanego badaniu przed eksportem do Hiszpanii. Materiał genetyczny BTV-4 wykryto również u matki cielaka i była to jedyna krowa ze stada liczącego 20 sztuk bydła w gospodarstwie, u której wykryto materiał genetyczny BTV (Ct = 24,3), co wskazywało na aktywną wiramię (18). Wykrycie materiału genetycznego BTV-4 u dwutygodniowego cielaka oraz jego matki może wskazywać na transmisję wirusa przez łożysko. Transplacentalna droga transmisji BTV była stwierdzana wcześniej przy zakażeniu BTV-1 oraz BTV-8 (23). Przeprowadzony zintensyfikowany nadzór nad BT w promieniu 10 km wokół ogniska choroby pozwolił na wykrycie kolejnych 33 przypadków choroby, w tym co najmniej 13 wywołanych przez BTV-4. Do marca 2018 r. zanotowano 84 przypadki BTV-4 we Francji, a strefy zamknięte wyznaczone w promieniu 150 km wokół ogniska choroby objęły swoim zasięgiem cały kraj (18) (ryc. 1).

Prawodawstwo europejskie dotyczące kontroli, monitorowania oraz przemieszczania zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV ze stref zamkniętych

Konsekwencją rozwoju sytuacji epizootycznej wywołanej szybkim szerzeniem się zakażeń wywołanych BTV-8 w północno-zachodniej Europie w latach 2006-2008 było wprowadzenie przez KE rozporządzenia wykonawczego nr 1266/2007 z 26 października 2007 r. w sprawie przepisów wykonawczych w odniesieniu do kontroli, monitorowania oraz warunków przemieszczania zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV w szczególności z terenów objętych restrykcjami w przemieszczaniu gatunków wrażliwych ze względu na występowanie lub zagrożenie występowaniem choroby niebieskiego języka. Zgodnie z prawodawstwem unijnym (dyrektywa 2000/75/EC), w promieniu 150 km wokół ogniska choroby wyznaczana jest strefa zamknięta z ograniczeniami w przemieszczaniu gatunków wrażliwych na zakażenie BTV, utworzona ze stref ochrony (100 km wokół ogniska choroby) oraz strefy nadzoru o szerokości 50 km na zewnątrz strefy ochrony.

W celu właściwego oraz skutecznego nadzoru nad BT rozporządzenie 1266/2007 nakazuje m.in. prowadzenie monitoringu serologicznego BT polegającego na badaniu zwierząt wskaźnikowych na obecność przeciwciał dla BTV. Przeprowadzone obserwacje wskazywały na udział w transmisji wirusa, obok kuczmanów, przemieszczania zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV. Zatem w celu nadzoru nad chorobą KE zaleca wykonywanie badań wirusologicznych na obecność materiału genetycznego BTV u wszystkich importow-

Ryc. 1. Aktualna mapa stref zamkniętych w Europie (z dnia 08.11.2018 r.), wyznaczonych ze względu na występowanie BTV

wanych, w ramach handlu wewnątrzwspólnotowego, zwierząt gatunków wrażliwych pochodzących ze stref zamkniętych. Ponieważ utrzymywanie się wirusa BT w środowisku związane jest z obecnością kuczmanów, rozporządzenie 1266/2007 nakazuje również nadzór entomologiczny *Culicoides* w celu określenia liczebności i składu gatunkowego kuczmanów oraz ustalenia okresów wolnych od ich aktywności. Prowadzenie monitoringu entomologicznego dostarcza cennych danych poglądowych wykorzystywanych przy wyznaczaniu tras oraz terminów transportu zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV, przewożonych w ramach handlu wewnątrzwspólnotowego. Przeprowadzone dotychczas analizy aktywności wektora wykazały, że okres od końca grudnia do pierwszej połowy marca na kontynencie europejskim jest okresem wolnym od obecności i aktywności *Culicoides*, dlatego też jest to najbezpieczniejszy termin transportu zwierząt zarówno ze stref zamkniętych, jak również w obrębie tych stref. Załącznik III rozporządzenia 1266/2007 określa warunki zwolnienia ograniczeń w przemieszczaniu zwierząt gatunków wrażliwych. Uwzględnia on m.in. szczepienie zwierząt gatunków wrażliwych szczepionką zawierającą serotyp BTV występujący endemicznie na danym terenie, z którego pochodzą importowane zwierzęta, a jednocześnie zachowany jest termin szczepienia, tak, aby był wystarczający okres na wytworzenie przeciwciał oraz skuteczne uodpornienie zwierząt przed importem.

Ryzyko związane z importem zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV ze stref zamkniętych

Wyznaczenie strefy zamkniętej ze względu na występowanie lub zagrożenie występowaniem BTV niesie ograniczenia w przemieszczaniu zwierząt gatunków wrażliwych na zakażenie BTV. Zwierzęta importowane ze stref zamkniętych lub krajów, których tranzyt przebiega przez obszar stref zamkniętych stanowią ryzyko zawleczenia choroby na tereny wolne od BT. Zatem transportowane zwierzęta powinny posiadać świadectwo zdrowia informujące o statusie immunologicznym zwierząt w szczególności datę szczepienia zwierząt. W przypadku transportu zwierząt nieszczepionych, zwierzęta powinny być odpowiednio zabezpieczone przed atakiem kuczmanów poprzez stosowanie repelentów lub innych środków odstraszających owady. Postój zwierząt podczas tranzytu na terenach, gdzie występuje BTV, w szczególności w okresie pełnej aktywności wektora, może sprzyjać zakażeniu zwierząt wirusem choroby niebieskiego języka przez zainfekowane BTV osobniki *Culicoides* występujące na terenie postoju. Zakażone BTV osobniki *Culicoides* mogą ponadto przemieścić się z bydlęciem podczas transportu na tereny wolne od BT. Zatem nadzór nad transportowanym bydlęciem obejmujący zarówno zabezpieczenie zwierząt poprzez szczepienia, jak również ochronę samego transportu zwierząt przed potencjalnym kontaktem z wektorem powinien być pod ścisłą kontrolą. Jedną z hipotez dotyczącą ustalenia źródła BTV-14 w północno-wschodniej

Polsce w powiecie sokólskim w 2012 r. przyjmowała jako źródło wirusa w Polsce sprowadzenie zakażonych BTV-14 *Culicoides* podczas transportu bydła z terenów, na których serotyp ten wówczas występował. Na terenie województwa podlaskiego znajduje się wiele punktów postoju, z których kierowcy korzystają podczas międzynarodowego transportu zwierząt zatem pojawienie się BTV-14 w Polsce wskutek transportu zakażonych BTV-14 osobników *Culicoides* podczas tranzytu zwierząt ze stref zamkniętych ze względu na występowanie BTV było wysoce prawdopodobne.

Przykładem zawleczenia BTV, na tereny wolne od danego serotypu, podczas handlu wewnątrzwspólnotowego jest wykrycie BTV-4 we Francji. Zgodnie z sugestiami francuskich władz, część zwierząt, u których stwierdzono materiał genetyczny BTV-4 w 2017 r., sprowadzona była po uprzednim zaszczepieniu z terenu Korsyki oraz Sardynii, gdzie serotyp BTV-4 krążył od co najmniej kilkunastu miesięcy (18).

W ramach handlu wewnątrzwspólnotowego do Polski sprowadzone zostały w styczniu 2015 r. z Rumunii zwierzęta z aktywną wiremią wskazującą na siewstwo wirusa. Przeciwciała skierowane przeciwko białku VP7 BTV wykryto u 16 cieląt z kohorty 150 sztuk importowanego bydła, pomimo że ze świadectw zdrowia wynikało, iż zwierzęta te uzyskały ujemny wynik badania serologicznego w kierunku BTV w Rumunii na kilka dni przed wyjazdem. Materiał genetyczny BTV-4 z wartościami Ct (24,5-27,3) wykryto u 7 cieląt. Pomimo zimowej pory oraz okresu wolnego od aktywności kuczmanów wszystkie zwierzęta z dodatnimi wynikami badań wirusologicznych poddano natychmiastowemu ubojowi w celu wyeliminowania ewentualnego rozprzestrzenienia się wirusa. Podobnie materiał genetyczny BTV-4 wykryto w 2016 r. u bydła pochodzącego z Rumunii i Węgier importowanego w transporcie mieszanym. Wyniki przeprowadzonych badań wirusologicznych, analiza świadectw zdrowia zwierząt oraz dane piśmiennictwa sugerowały wykrycie poszczepiennego materiału genetycznego BTV-4. Towarzyszące zwierzętom świadectwa zdrowia zawierały informację dotyczącą szczepień przeciwko BTV-4, jednak brak było na nich daty szczepienia, co uniemożliwiało jednoznaczną interpretację wyników przeprowadzonych badań wirusologicznych. Osobną i niezwykle ważną kwestią pozostawały kontrowersyjne dane literaturowe w odniesieniu do interpretacji wyniku dodatniego rtRT-PCR u zwierząt uodpornianych szczepionkami komercyjnymi. Zgodnie z podręcznikiem OIE, wykrycie materiału genetycznego wirusa BT definiuje przypadek wystąpienia choroby. Biorąc pod uwagę status Polski względem BT oraz brak jednoznacznych danych dotyczących bezpieczeństwa importu zwierząt, u których wykrywano poszczepienny materiał genetyczny, decyzją kompetentnych władz Inspekcji Weterynaryjnej zwierzęta poddano ubojowi.

Konsekwencją dynamicznego szerzenia się BTV-8 na terenie kontynentalnej Francji w latach 2015-2017 oraz wysokiego wskaźnika liczby importowanego do

Polski bydła było wykrycie u 6 sztuk bydła materiału genetycznego BTV-8 jesienią 2016 r. (3 sztuki bydła ze stada 165 importowanych zwierząt) oraz na wiosnę 2017 roku (3 sztuki bydła ze stada 122 sztuk). Wartości przeprowadzonych badań wirusologicznych metodami biologii molekularnej wskazywały na aktywną wiramię (RNAemię), wobec czego bydło z dodatnimi wynikami badań wirusologicznych poddano ubojowi. We wrześniu 2018 r. brytyjskie laboratorium referencyjne ds. choroby niebieskiego języka w Pirbright oraz The Animal and Plant Health Agency (APHA) potwierdziły chorobę niebieskiego języka oraz wyizolowały wirus (BTV-8) u dwóch sztuk bydła importowanego z Francji. Decyzją brytyjskich władz Inspekcji Weterynaryjnej zwierzęta zostały natychmiast skierowane do uboju bądź powrotnego transportu do Francji https://www.farminguk.com/News/Bluetongue-virus-detected-in-two-cattle-imported-from-France_50306.html. Podobny przypadek importu bydła z Francji do Anglii i Irlandii odnotowano na początku grudnia 2018 r. Zwierzęta, u których wykryto materiał genetyczny BTV, poddano natychmiastowemu ubojowi (https://www.farminguk.com/News/Bluetongue-virus-detected-in-two-French-cattle-in-Yorkshire_50900.html).

Przytoczone powyżej przykłady importu bydła, u którego wykryto materiał genetyczny BTV, ze stref zamkniętych ze względu na występowanie BTV wskazują na ryzyko zawleczenia choroby niebieskiego języka na tereny wolne od BT. W latach 2007-2010, zgodnie z polityką Głównego Lekarza Weterynarii w Polsce był zakaz szczepień, a zwierzęta wprowadzane do kraju eliminowane były z hodowli, jeśli którykolwiek z testów, wirusologiczny czy serologiczny wypadły dodatnio. Jednocześnie prowadzono program monitoringu BT w stosunku do bydła rodzimego. Konsekwencją było uzyskanie przez Polskę w czerwcu 2010 r. statusu kraju wolnego od BT, który utrzymuje się do chwili obecnej, pomimo iż na południu i zachodzie Europy od kilku lat wirus występuje endemicznie. Zatem ścisły nadzór nad BT zwierząt importowanych w szczególności z terenów stref zamkniętych jest istotny nie tylko w przypadku monitorowania choroby, ale również przy podtrzymaniu statusu kraju wolnego od choroby niebieskiego języka.

Piśmiennictwo

1. Belbis G., Zientara S., Bréard E., Sailleau C., Caignard G., Vitour D., Attoui H.: Bluetongue Virus: From BTV-1 to BTV-27, [w:] Beer M., Höper D. (red.): Adv. Virus Res. 2017, 99, 161-197.
2. Bournez L., Cavalerie L., Sailleau C., Bréard E., Zanella G., de Almeida R. S., Pedarrieu A., Garin E., Tourette I., Dion F., Hendrikx P., Calavas D.: Estimation of French cattle herd immunity against bluetongue serotype 8 at the time of its re-emergence in 2015. BMC Vet Res. 2018, 14, 65, doi: 10.1186/s12917-018-1388-1.
3. Breard E., Sailleau C., Nomikou K., Hamblin C., Mertens P. P., Mellor P. S., Harrah M., Zientara S.: Molecular epidemiology of bluetongue virus serotype 4 isolated in the Mediterranean Basin between 1979 and 2004. Virus Res. 2007, 125, 191-197.
4. Bréard E., Sailleau C., Quenault H., Lucas P., Viarouge C., Touzain F., Fablet A., Vitour D., Attoui H., Zientara S., Blanchard Y.: Complete Genome Sequence of Bluetongue Virus Serotype 8, Which Reemerged in France in August 2015. Genome Announc. 2016, 4, e00163-16, doi: 10.1128/genomeA.00163-16.
5. Cuéllar A. C., Kjær L. J., Kirkeby C., Skovgaard H., Nielsen S. A., Stockmarr A., Andersson G., Lindstrom A., Chirico J., Lühken R., Steinke S., Kiel K., Gethmann J., Conraths F., Larska M., Hammes L., Sviland S., Hopp P., Brugger K., Rubel F., Balenghien T., Garros C., Rakotoarivony I., Allène X., Lhoir J., Chavernac D., Delécolle J. C., Mathieu B., Delécolle D., Setier-Rio M. L., Venail R., Scheid B., Miguel Ángel Miranda Chueca M. A. M., Barceló C., Lucientes J., Estrada R., Mathis A., Tack W., Bodker R.: Spatial and temporal variation in the abundance of Culicoides biting midges (Diptera: Ceratopogonidae) in nine European countries. Parasit. Vectors 2018, 11, 112, doi: 10.1186/s13071-018-2706-y.
6. Flannery J., Darpe K., Frost L., Henstock M., Hicks H., Batten C.: BTV-14: Kinetics of infection in sheep. Bluetongue and related orbiviruses. IV Internat. Conf. Rome 5-7 November 2014, p. 120.
7. Hoffman M. A., Renzullo S., Planzer J., Mader M., Chaignat V., Thueret B.: Detection of Toggenburg orbivirus by a segment 2-specific quantitative RT-PCR. J. Virol. Methods 2010, 165, 325-329.
8. Hornyák Á., Malik P., Marton S., Dörb R., Cadar D., Bányai K.: Emergence of multireassortant bluetongue virus serotype 4 in Hungary. Infection, Genetics Evolution 2015, 33, 6-10.
9. Hüsey D., Moser M., Vögtlin A.: An update on the BTV situation in Switzerland. EU Bluetongue Virus and African Horse Sickness Virus Reference Laboratory Workshop. Madrid, Spain 28 November 2018.
10. Lorusso A.: BTV-3 Sardinia. EU Bluetongue Virus and African Horse Sickness Virus Reference Laboratory Workshop. Madrid, Spain 28 November 2018.
11. Lorusso A., Sghaier S., Carvelli A., Di Gennaro A., Leone A., Marini V., Pelini S., Marcacci M., Rocchigiani A. M., Puggioni G., Savini G.: Bluetongue virus serotypes 1 and 4 in Sardinia during autumn 2012: new incursions or re-infection with old strains? Infect. Genet. Evol. 2013, 19, 81-87.
12. Maan S., Maan N. S., Nomikou K., Batten C., Antony F., Belagahanalli M. N., Samy A. M., Reda A. A., Al-Rashid S. A., El Batel M., Oura C. A. L., Mertens P. P. C.: Novel Bluetongue Virus Serotype from Kuwait. Emerg. Infect. Dis. 2011, 17, 886-889, doi: 10.3201/eid1705.101742.
13. Mellor P. S., Baylis M., Mertens P. P. C.: Bluetongue. Academic Press, London, United Kingdom 2009.
14. Nomikou K., Batten C., Morecroft E., Vigo Martin M., Kolbasov D., Frost L., Mertens P.: Molecular characterization of BTV-14 in North Europe. Bluetongue and related orbiviruses. IV Internat. Conf. Rome 5-7 November 2014, p. 55.
15. Orłowska A., Trębas P., Smreczak M., Marzec A., Żmudziński J. F.: First detection of bluetongue virus serotype 14 in Poland. Arch. Virol. 2016, 161, 1969-1972.
16. Panferova A., Koltsov A., Navikhova M., Vialykh I., Dzivoderov S., Kurinnov V., Lunitsyn A., Tsybanov S., Kolbasov D.: Bluetongue situation in Russia. EURL for Bluetongue Annual Meeting 2012, London Ilford 3-4 December 2012.
17. Ries Ch., Hoffmann B.: Atypical BTV from Mongolia and Germany. EU Bluetongue Virus and African Horse Sickness Virus Reference Laboratory Workshop 2018. Madrid, Spain 28 November 2018.
18. Sailleau C., Breard E., Viarouge C., Gorlier A., Leroux A., Hirchaud E., Lucas P., Touzain F., Vitour D., Grandcollot-Chabot M., Zientara S.: Emergence of bluetongue virus serotype 4 in mainland France in November 2017. Transbound. Emerg. Dis. 2018, 65, 1158-1162.
19. Sailleau C., Breard E., Viarouge C., Gorlier A., Quenault H., Hirchaud E., Touzain F., Blanchard Y., Vitour D., Zientara S.: Complete genome sequence of bluetongue virus serotype 4 that emerged on the French island of Corsica in December 2016. Transbound. Emerg. Dis. 2018, 65, 194-197.
20. Sailleau C., Bréard E., Viarouge C., Vitour D., Romey A., Garnier A., Fablet A., Lowenski S., Gorna K., Caignard G., Pagneux C., Zientara S.: Re-Emergence of Bluetongue Virus Serotype 8 in France, 2015. Transbound. Emerg. Dis. 2017, 64, 998-1000, doi: 10.1111/tbed.12453.
21. Savini G., Puggioni G., Meloni G., Marcacci M., Di Domenico M., Rocchigiani A. M., Spedicali M., Oggiano A., Manunta D., Teodori L., Leone A., Portanti O., Cito F., Conte A., Orsini M., Cammà C., Calistri P., Giovannini A., Lorusso A.: Novel putative Bluetongue virus in healthy goats from Sardinia, Italy. Infect. Gen. Evol. 2017, 51, 108-117.
22. Sghaier S., Lorusso A., Portanti O., Marcacci M., Orsini M., Barbria M. E., Mahmoud A. S., Hammami S., Petrini A., Savini G.: A novel Bluetongue virus serotype 3 strain in Tunisia, November 2016. Transbound. Emerg. Dis. 2017, 64, 709-715, doi: 10.1111/tbed.12640.
23. Sluijs M. T. W. (van der), Schroer-Joosten D. P. H., Fid-Fourkour A., Vrijenhoek M. P., Debyser I., Moulin V., Moorman R. J. M., de Smit A. J.: Transplacental Transmission of Bluetongue Virus Serotype 1 and Serotype 8 in Sheep: Virological and Pathological Findings. PLoS One 2013, 8, e81429, doi: 10.1371/journal.pone.0081429.
24. Wilson A. J., Mellor P. S.: Bluetongue in Europe: past, present and future. Philos. Trans. R Soc. Lond. B Biol. Sci. 2009, 27, 364 (1530): 2669-2681, doi: 10.1098/rstb.2009.0091.
25. Zientara S., Sailleau C., Viarouge C., Hoper D., Beer M., Janckel M., Hoffmann B., Romey A., Bakkali-Kassimi L., Fablet A., Vitour D., Breard E.: Novel bluetongue virus in goats, Corsica, France, 2014. Emerg. Infect. Dis. 2014, 20, 2123-2125.

Adres autora: dr inż. Anna Orłowska, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy;
e-mail: anna.orłowska@piwet.pulawy.pl