Monitoring Serologiczny



- Co to jest monitoring serologiczny
- Choroba Gumboro
  wskazówki do interpretacji badań serologicznych
- Problemy w praktycznej diagnostyce białaczek ptasich
- Problemy w praktycznej diagnostyce mykoplazmozy kur
- Reowirusy ptasie
  – ukryte zagrożenie

Przedsiębiorstwo Produkcyjno-Handlowe
ESKULAP Spółka Jawna

IDEXX

CO TO JEST MONITORING SEROLOGICZNY

W odniesieniu do drobiarstwa oznacza okresowe badanie surowic ptaków w danym stadzie w celu określenia obecności przeciwciał przeciwko ważnym w praktyce zarazkom. Krew do badań pobiera się w ściśle określonych odstępach i bada w kierunku obecności specyficznych przeciwciał przeciwko określonym zarazkom. Monitoring serologiczny jest nowoczesną metodą diagnostyczną z dużym powodzeniem stosowaną w najbardziej rozwiniętych krajach świata.

DLACZEGO NALEŻY PROWADZIĆ MONITORING SEROLOGICZNY !?

Dzięki prowadzeniu monitoringu serologicznego można:
- określić poziom przeciwciał matczynych
- ocenić technikę szczepień
- ocenić odporność poszczepienną
- sygnalizować pojawianie się problemów zdrowotnych
- precyzyjnie i wcześnie rozpoznawać choroby
- porównywać stada między sobą
- obniżyć wielkość konfiskat rzeźnych
- obniżyć koszty produkcji poprzez poprawę stanu zdrowotnego Prowadzenie monitoringu serologicznego umożliwia:
- Określanie poziomu przeciwciał matczynych

Prowadzenie Monitoringu serologicznego umożliwia

Określenie preciwciał matczynych

Znajomość poziomu przeciwciał u jednodniowych piskląt ma niesłychanie ważne znaczenie praktyczne. Wiedza ta pozwala między innymi ocenić program szczepień w stadach rodzicielskich, umożliwia także precyzyjne określenie terminu szczepień ptaków np. przeciwko chorobie Gumboro czy rzekomemu pomorowi drobiu. Wydaje się,że wzorem wielu państw z rozwiniętą produkcją drobiarską należy dążyć do sytuacji kiedy każde stado piskląt opuszczające zakład wylęgowy będzie zaopatrzone w wyniki badań serologicznych. Korzystając z pomocy programów komputerowych firmy Idexx można w sposób automatyczny wyliczyć optymalny termin szczepienia przeciwko chorobie Gumboro dla każdego stada.

Ocenę odpowiedzi serologicznej po szczepieniu

Śledzenie odporności poszczepiennej pozwala na optymalizację zużycia szczepionek. W przypadku gdy stopień odporności poszczepiennej nie jest zadowalający możliwe jest skrócenie odstępu czasowego pomiędzy poszczególnymi szczepieniami. Przy wysokim poziomie odporności poszczepiennej przerwy pomiędzy poszczególnymi immunizacjami mogą być natomiast dłuższe.

Ocenę skuteczności zastosowanej techniki podania szczepionki

W wielu przypadkach błędy w technice szczepienia mają negatywny wpływ na powstanie odporności poszczepiennej. W takiej sytuacji monitorowanie serologiczne pozwala na bardzo szybką reakcję i poprawę techniki szczepienia.

Rozpoznawanie chorób

Regularne badania serologiczne pozwalają również na bardzo szybkie i precyzyjne rozpoznanie wielu chorób. Dotyczy to zwłaszcza często spotykanych w praktyce jednostek chorobowych o przebiegu podklinicznym. Dobrym przykładem możliwości diagnostycznych przy zastosowaniu monitorowania serologicznego jest szybkie zróżnicowanie czy za występujący u niosek nagły spadek produkcji jest odpowiedzialny wirus zakaźnego zapalenia oskrzeli (IB) czy na przykład wirus zakaźnego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego (AE). Monitorowanie serologiczne pozwala na obiektywną ocenę stanu zdrowia danego stada. Na podstawie wyników badań wielu stad można sporządzić ocenę stanu zagrożenia chorobami zakaźnymi na danym terenie.

Najważniejsze zasady, których należy przestrzegać przy pobieraniu krwi do badań serologicznych.

- Krew do badań powinna być pobierana losowo.
- Zalecana wielkość próbek

Jest oczywiste, że zasadnicze znaczenie dla prawidłowej interpretacji wyników badań serologicznych jest badanie odpowiednio licznych prób. Tylko badanie statystycznie wiarygodnej liczby surowic pozwala żywić nadzieję, że decyzje podjęte na podstawie wyników będą wiarygodne.

Rodzaj stada	Miejsce pobrania krwi	Wielkość próbki
Stada reprodukcyjne i nieśne	Żyła skrzydłowa	23 próby na stado
Stada brojlerowskie	Żyła skrzydłowa, serce	23 próby na stado

Stado tym przypadku jest grupą ptaków utrzymywanych w jednym pomieszczeniu (kurniku).

- Krew do badań należy pobierać poza halą produkcyjną
- Jeśli jest to możliwe krew do badań serologicznych należy pobierać od ptaków będących na czczo
- Do badań serologicznych należy wybierać osobniki przeciętne (średnie)
- Nie należy w żadnym przypadku przeznaczać do badań serologicznych sztuk charłaczych

Przykładowy harmonogram monitoringu serologicznego w stadach rodzicielskich brojlerów kurzych

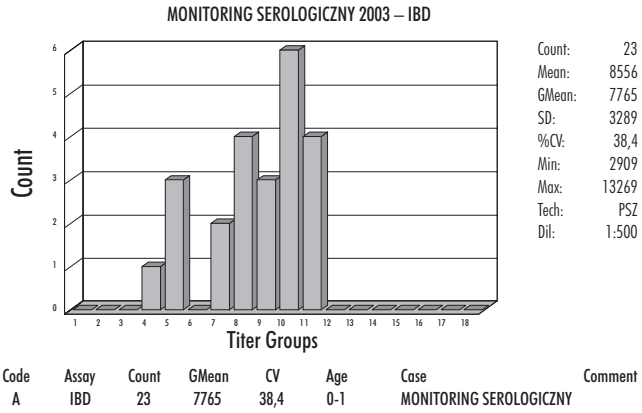
Tyg. życia	ND	IBD	IB	REO	CAV	SHS	Mg	Ms	AE
0-1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+			+		
10					+				
12	+	+	+	+			+	+	
18	+	+	+	+	+	+			+
24	+	+	+	+			+		
35	+	+	+	+			+		
45	+	+	+	+			+		
60	+	+	+	+			+		

Przykładowy harmonogram monitoringu serologicznego w stadach brojlerów kurzych

Wiek ptaków	Rzekomy pomór drobiu	Choroba Gumboro	Zak. zapalenie oskrzeli	Zakażenia reowirusowe	Zakażenie M. gallisepticum *	Zakaźna anemia kurcząt
0-3 dzień	+	+	+	+	+	+*
Badanie w ubojni	+	+	+	+	+	+

Jak odczytywać wyniki uzyskane przy pomocy programu X chek

Laboratoria autoryzowane firmy Idexx przekazują uzyskane wyniki badania w teście ELISA w postaci typowego histogramu uzyskanego za pomocą programu xChek Ta forma przedstawiania wyniku badań - ułatwia śledzenie zmian w kształtowaniu poziomu przeciwciał w trakcie prowadzonego monitoringu serologicznego.



Zamieszczony poniżej przykład zawiera typowy histogram i podaje zasady odczytywania wyniku zobrazowanego tym sposobem.

Monitoring serologiczny: w tym miejscu drukowany jest opis identyfikujący stado

IBD: kierunek badania – w tym punkcie podane jest jaki antygen był badany. (IBD- choroba Gumboro, NDV- rzekomy pomór drobiu, IBV – zakaźne zapalenie oskrzeli, REO – zakażenia reowirusowe, itd.)

Count: liczba surowic o mianie należącym do danej grupy

Count: liczba badanych surowic

Mean: średnie (przeciętne) miano ELISA badanych prób surowic ptaków.

Gmean: średnie geometryczne miano ELISA badanych prób surowic ptaków.

F. S D.: odchylenie standardowe

C.V.: %(Coefficient of Variation) Współczynnik zmienności, który charakteryzuje zróżnicowanie wyniku. Jeżeli wskaźnik C.V. jest mniejszy niż (40 % przyjmuje się, że rozproszenie wyników czyli zróżnicowanie zmian pomiędzy poszczególnymi osobnikami jest zadowalające co oznacza, że wszystkie ptaki w stadzie reagowały podobnie. Wysoki współczynnik zmienności oznacza, że zróżnicowanie mian pomiędzy poszczególnymi osobnikami w stadzie jest zbyt duże, co nie jest korzystnym zjawiskiem. Ocena wartości współczynnika zmienności jest szczególnie istotna przy określaniu terminu szczepienia przeciwko chorobie Gumboro. Jest w zasadzie możliwe jedynie gdy ten współczynnik jest (40 %.

Min: Najniższe miano surowicy

Max: Najwyższe miano surowicy

Tech: Inicjały osoby wykonującej badanie

Dilution podaje rozcieńczenie próbek (standardowo1: 500; CAV ELISA 1: 10)

Titer Group: numer grupy mian

Code: kod danego stada

Assay kierunek badania – w tym punkcie podane jest jaki antygen był badany. (IBD- choroba Gumboro, NDV- rzekomy pomór drobiu, IBV – zakaźne zapalenie oskrzeli, REO – zakażenia reowirusowe, itd.)

Age: wiek badanego stada

Case: w tym miejscu drukowany jest opis identyfikujący stado

R: Comment: komentarze

Choroba Gumboro

wskazówki do interpretacji wyników badań serologicznych

Podstawowe informacje o chorobie

Przyczyna: Bardzo oporny na niekorzystne działanie czynników środowiska zewnętrznego, wirus należący do rodziny Birnaviridae (Bi RNA- czyli wirus zawierający dwuniciowy RNA).

Objawy kliniczne: Choroba Gumboro występuje najczęściej w wieku około 3-5 tyg. Wirus niszczy układ odpornościowy ptaka, zwłaszcza torbę Fabrycjusza i śledzionę. Może dojść także do uszkodzenia nerek. Wynikiem uszkodzenia układu immunologicznego jest wysokie ryzyko zakażeń innymi patogenami (np. IBV, NDV, MG, E. coli), kiedy dojdzie do zakażenia w tyg. po wykluciu. Objawy kliniczne choroby są bardzo zróżnicowane; od przebiegających z wysoką śmiertelnością (do 60 % stada) do subklinicznego przebiegu powodującego pogorszenie wyników produkcyjnych. Na przebieg choroby w największym stopniu mają wpływ zjadliwość wirusa i stan immunologiczny organizmu ptaka w momencie zakażenia.

Zmiany sekcyjne: W różnym stopniu nasilone zmiany w torbie Fabrycjusza. Również wybroczyny w mięśniach udowych i piersiowych oraz zmianyw nerkach.

Diagnostyka: Wywiad, objawy kliniczne, serologia, histopatologia, izolacja wirusa, IFT, test dyfuzji w żelu agarowym wykrywający antygen wirusowy.

Serologia zakażeń wirusem choroby Gumboro

Wirus IBD charakteryzuje się silną immunogennością. Zakażenie wirusem choroby Gumboro prowadzi do powstania specyficznych przeciwciał, których obecność można wykazać w teście dyfuzji w żelu agarowym, teście seroneutralizacji (SN) lub w teście immunoenzymatycznym (ELISA). Pierwsze przeciwciała precipitujące pojawiają się między 6 a 20 dniem po zakażeniu. Przeciwciała te utrzymują się przez okres około 3 miesięcy. Nie znaleziono korelacji między przeciwciałami SN a przeciwciałami precypitującymi w przebiegu zakażenia wirusem IBD. Ptaki z bardzo wysokim mianem przeciwciał SN (16 000) nie miały przeciwciał precypitujących. Zdaniem wszystkich autorów istnieje bardzo wysoka korelacja między wynikami uzyskanymi w teście seroneutralizacji i immunoenzymatycznym. Najpraktyczniejszym testem serologicznym stosowanym w praktyce do oceny poziomu odporności okazał się test immunoenzymatyczny. ELISA jest czułym, specyficznym i tanim testem stosowanym aktualnie jako test z wyboru w diagnostyce IBD. Należy mieć na uwadze, że przeciwciała w tym teście wykrywa się już po 5-7 dniach od zakażenia i ich poziom stosunkowo szybko wzrasta. Poziom przeciwciał seroneutralizujących jest ściśle związany z ochroną przed zakażeniem. Stada, które nie były szczepione i mają specyficzne przeciwciała wykryte np. w teście IDEXX IBD ELISA miały kontakt z zarazkiem. Jest to słuszne tylko w odniesieniu do ptaków, które ukończyły 21 dni, bowiem do tego czasu mogą być wykrywane przeciwciała matczyne. W szczepionych stadach miano znacznie wyższe niż stwierdzone zazwyczaj po szczepieniach (miano wzorcowe) może być wskaźnikiem zakażenia wirusem IBD. Jakkolwiek w szczepionych stadach ostateczna diagnoza serologiczna nie jest możliwa.

IBD występuje najczęściej u kurcząt w wieku poniżej 5 tyg. W profilaktyce dąży się zatem do zapewnienia odporności kurczętom w pierwszych tygodniach życia. W praktyce jest to realizowane przez hyperimmunizację niosek, które przekazują przeciwciała na swoje potomstwo lub szczepienie tylko piskląt, lub też łączne stosowanie obu tych sposobów. W obu przypadkach monitoring serologiczny w stadach rodzicielskich pozwala na określenie terminu szczepień i ocenę ich efektywności po stosowaniu szczepionek żywych jak i inaktywowanych. Wprowadzenie w ostatnich latach, do praktyki, szczepionek inaktywowanych wymagało zmiany zasad immunoprofilaktyki choroby Gumboro przy użyciu szczepionek żywych. Okazało się, że szczepionki zawierające szczepy bardzo silnie atenuowane są nieprzydatne u potomstwa rodziców uodpornionych szczepionkami olejowymi. Przeciwciała matczyne w wysokim stopniu neutralizują bowiem wirus szczepionkowy.

Jednym z najważniejszych problemów profilaktyki choroby Gumboro jest więc zagadnienie wyboru terminu szczepień. Dla prowadzenia prawidłowej immunoprofilaktyki tej choroby konieczne jest monitorowanie piskląt w pierwszym tygodniu życia. Wydaje się, że stosowane w Polsce coraz szerzej badania monitoringowe wykonywane za pomocą testu ELISA, z zastosowaniem standardowych zestawów diagnostycznych, stwarzają większe możliwości prowadzenia racjonalnej polityki szczepień przeciwko chorobie Gumboro. W praktyce badania mające na celu określenie poziomu przeciwciał przeciwko wirusowi choroby Gumboro są najczęściej wykonywanymi badaniami monitoringowymi u drobiu, a interpretacja uzyskanych wyników często napotyka na trudności w związku z brakiem kryteriów oceny. Podane niżej przykłady mają ułatwić to zadanie.

NAJWAŻNIEJSZA ZASADA MONITORINGU SEROLOGICZNEGO

W diagnostyce serologicznej dominuje stała reguła w myśl której wykładnikiem świeżego zakażenia jest nie bezwzględna wysokość poziomu przeciwciał, ale ich wzrost – **SEROKONWERSJA**, w okresie między jednym a drugim badaniem.

Tab.1. Wzorcowe miana specyficznych przeciwciał u brojlerów kurzych
(Opracowano na podstawie badań własnych wykonanych w 1998 roku, przy pomocy testu immunoenzymatycznego Infectious Bursal Disease Virus Antibody Test - firmy Idexx).

Wiek życia w dniach	STADO NIE ZAKAŻONE NIE-SZCZEPIONE	STADO NIE-SZCZEPIONE ZAKAŻONE	STADO SZCZEPIONE ZAKAŻONE — I SCHEMAT SZCZEPIENIA	STADO SZCZEPIONE NIEZAKAŻONE — II SCHEMAT SZCZEPIENIA	STADO SZCZEPIONE NIEZAKAŻONE — III SCHEMAT SZCZEPIENIA
1	4000-8000	3500	3200	4000-8000	4000-8000
14	1000-2500	1500	1100	1000-2000	1000-2000
21	<500	<200	600	<500	<500
28	<200	>1000	>1000	>500	>800
35	<100	>1800	>3000	>1000	>1500
42	00	>3000	>4000	>1500	>2000

I Schemat szczepienia – immunizacja szczepionką pośrednią – w 14 dniu życia.
II Schemat szczepienia – szczepionka pośrednia między 12-16 dniem życia i drugie szczepienie szczepionką pośrednią 7-10 dni później.
III Schemat szczepienia – szczepionka pośrednia plus między 10-14 dniem życia i drugie szczepienie szczepionką pośrednią 10 dni później.

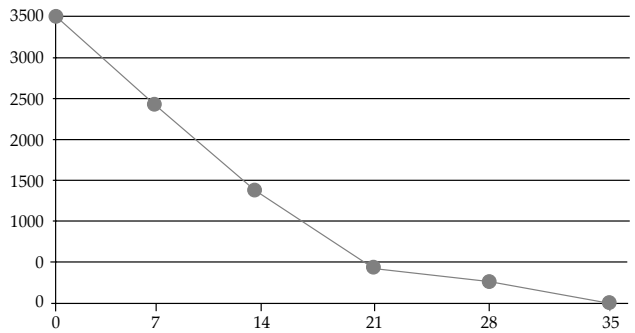
UWAGA: Podane wyżej dane liczbowe należy traktować jako orientacyjne. Na rzeczywisty dla danego terenu poziom przeciwciał wpływa aktualne zagrożenie epizootyczne, stąd dla każdego obiektu konieczne jest ustalenie indywidualnego wzorca.

Tab.2. Wzorcowe miana specyficznych przeciwciał i współczynnik zmienności u ptaków w stadach rodzicielskich brojlerów kurzych
(Opracowano na podstawie badań własnych wykonanych w 1998 roku, przy pomocy testu immunoenzymatycznego Infectious Bursal Disease Virus Antibody Test - firmy Idexx).

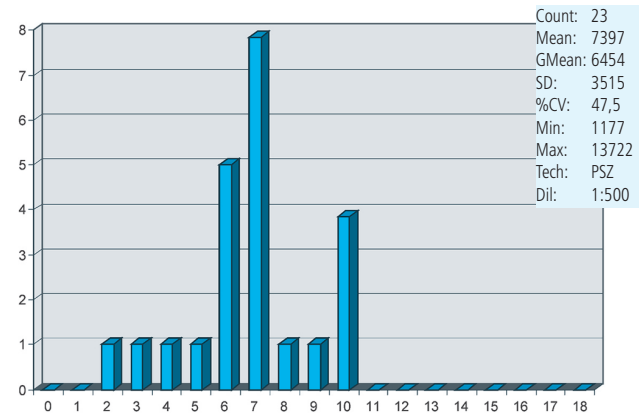
WIEK ŻYCIA	ŚREDNIE MIANO GEOMETRYCZNE	WSPÓŁCZYNNIK ZMIENNOŚCI (C.V. %)
1 tydzień	4000-8000	20-45
2 tydzień	2000-3000	35-75
3 tydzień	1000-1500	>70
8 tydzień	2000-3000	40-55
16 tydzień	3000-5000	50-60
35 tydzień	10000-15000	25-35
45 tydzień	10000-15000	25-35
55 tydzień	10000-12000	25-40
65 tydzień	8000-10000	30-45
75 tydzień (stado przepierzane)	6000-8000	35-45

UWAGA: Podane wyżej dane liczbowe należy traktować jako orientacyjne. Na rzeczywisty dla danego terenu poziom przeciwciał wpływa aktualne zagorożenie epizootyczne, stąd dla każdego obiektu konieczne jest ustalenie indywidualnego wzorca.

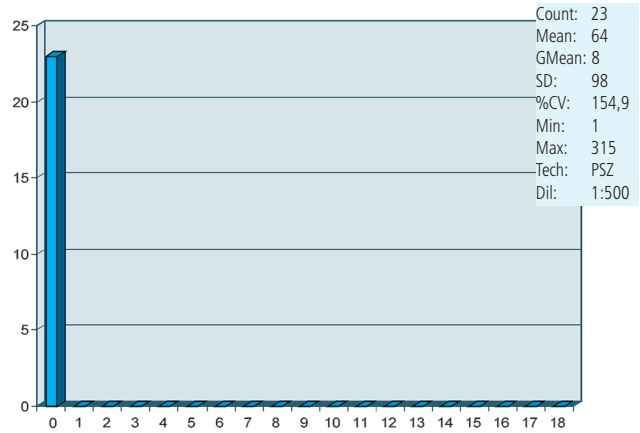
Praktyczne zasazdy zastosowania monitoringu serologicznego



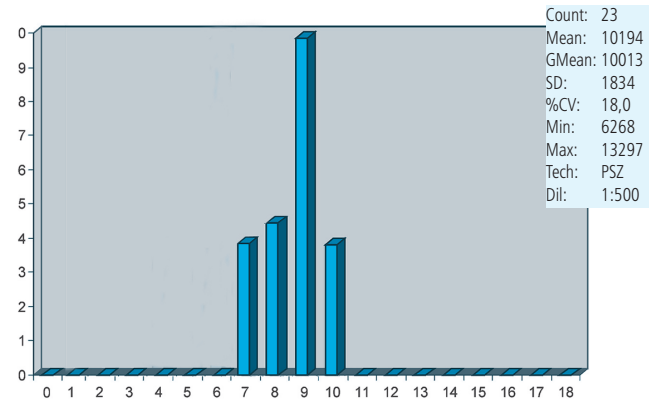
Ryc.1. Rycina ta obrazuje tempo zanikania przeciwciał matczynych u kurcząt rzeźnych.



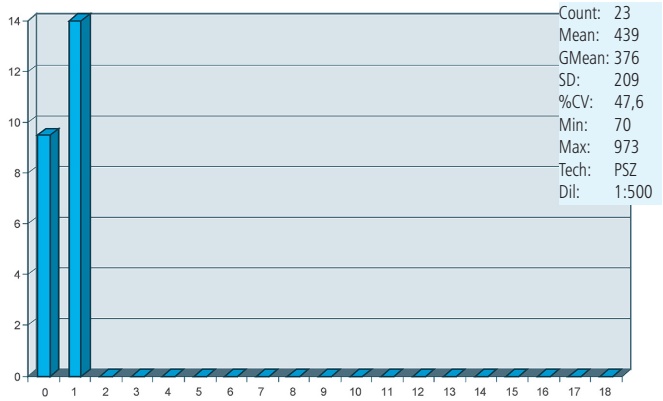
Ryc. 3. Stado jednodniowych piskląt brojlerów z nie wyrównanym poziomem przeciwciał matczynych. Ze względu na zagrożenie epizootyczne na fermie, zaproponowano na podstawie tego wyniki szczepienia ptaków w 11 dniu – szczepionką pośrednią plus i w 20 dniu szczepionką pośrednią. W trakcie odchowu nie obserwowano klinicznych objawów choroby Gumboro. Krew do kontroli wyniku szczepienia pobrano w 35 dniu, a uzyskany wynik przedstawiono na rycinie 8.



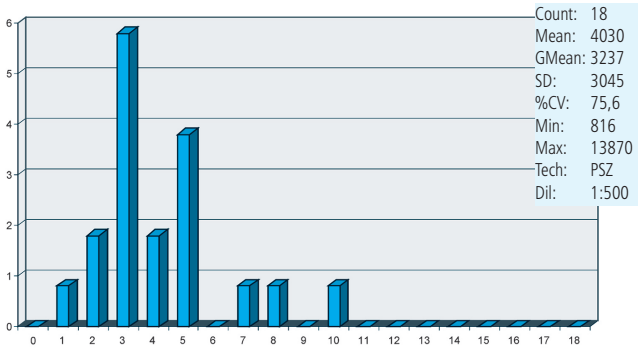
Ryc. 4. Wynik ujemny badania w teście ELISA. Wyników takich nie stwierdza się w zasadzie w surowicach jednodniowych piskląt. Teoretycznie taki wynik mógłby być osiągnięty u ptaków, u których zaniknęły przeciwciała matczyne i nie doszło u nich do zakażenia wirusem terenowym. Wynik ten potwierdza, że ptaki w tym stadzie są w pełni wrażliwe na infekcję wirusem.



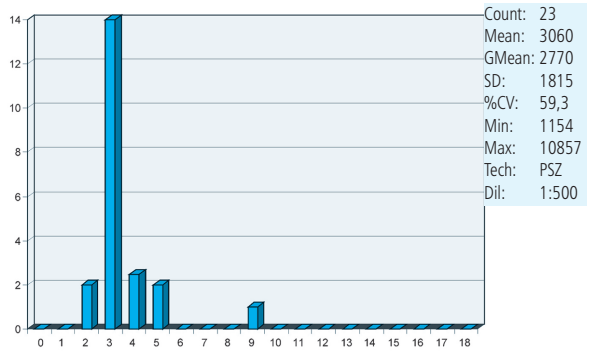
Ryc. 2. Przykład dobrego wyniku badania serologicznego piskląt brojlerowskich. Badanie wykonano pobierając krew od 1 dniowych ptaków. Program profilaktyki i jego realizację,w tym stadzie rodzicielskim brojlerów należy ocenić jako bar-dzo dobry. Wysokie średnie miano (10194) i niski współczynnik zmienności, wynoszący 18 % pozwalają na ustalenie skutecznego programu profilaktyki przy zastosowaniu nawet jednokrotnego szczepienia. W dalszej części opisano szczegółowo jak należy wyliczyć termin optymalnego szczepienia dla tego stada.



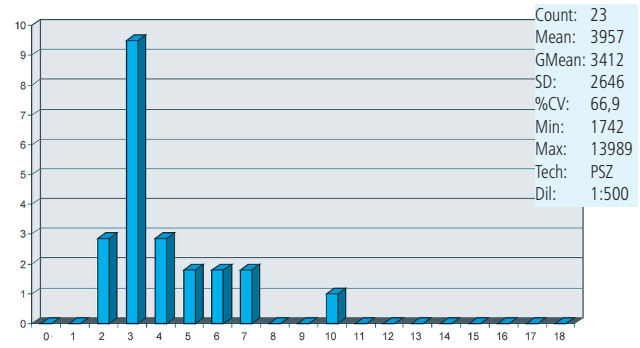
Ryc.5. Badanie wykonano pobierając krew od 8 tygodniowych kurcząt rzeź-nych. Jest to typowy wynik dla brojlerów nie szczepionych przeciwko chorobie Gumboro, odchowywanych na fermie wolnej od zakażenia tym wirusem. Obecność niewielkich mian specyficznych przeciwciał u ok. 56% ptaków jest wynikiem przeniesienia wirusa szczepionkowego z innych szczepionych przeciwko chorobie Gumboro stad utrzymywanych na tej fermie.



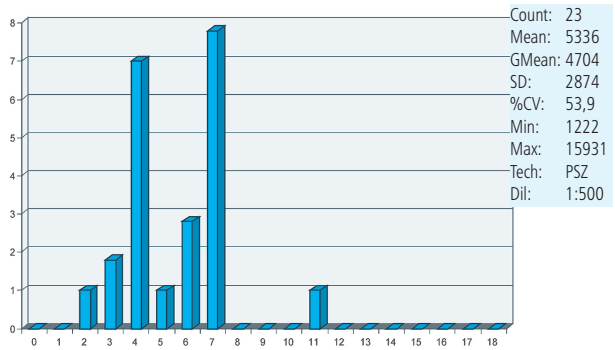
Ryc.6. Badanie wykonano pobierając krew od ptaków w wieku 42 dni. Było to stado kurcząt brojlerów, nieszczepionych przeciwko chorobie Gumboro, w którym w 25 dniu wystąpiły objawy kliniczne tej choroby. Obserwowano typowe zmiany sekcyjne. Badanie histologiczne potwierdziło charakterystyczne zmiany w torbie Fabrycjusza. W okresie trwania choroby padło łącznie 8 % ptaków. Zwraca uwagę wysokie średnie miano i stosunkowo wysoki współczynnik zmienności (CV -75,6 %).



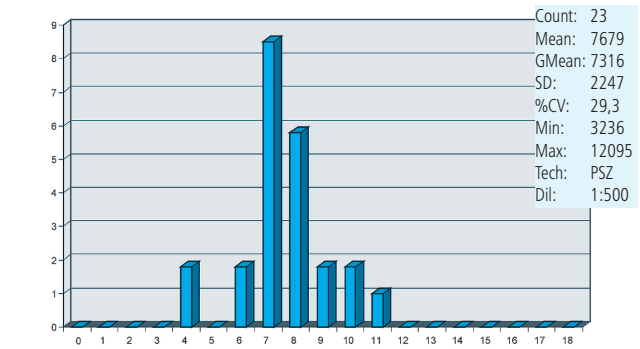
Ryc. 7. Badanie wykonano pobierając krew od ptaków w wieku 44 dni. Stado brojlerów immunizowano dwukrotnie, zgodnie ze wskazaniami monitoringu serologicznego 1 dniowych piskląt, podając szczepionkę pośrednią w 14 i 24 dniu życia ptaków. Wszystkie ptaki posiadały zadowalające poziomy przeciwciał. Najniższe miano wynosiło 1154 i było w pełni wystarczające do zapewnienia ochrony przed terenowym wirusem choroby Gumboro.



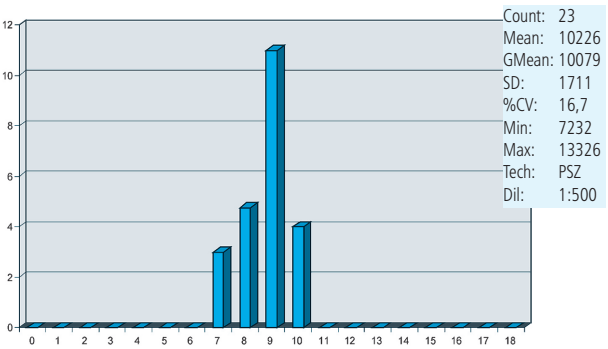
Ryc. 8. Badanie wykonano pobierając krew od ptaków w wieku 35 dni. Stado brojlerów immunizowano dwukrotnie, zgodnie ze wskazaniami monitoringu serologicznego 1 dniowych piskląt (Ryc. 3), podając szcze-pionkę pośrednią plus w 11dniu i szczepionkę pośrednią w 20 dniu życia ptaków. Wszystkie ptaki posiadały zadowalające poziomy przeciwciał. Zastosowany program szczepień okazał się w pełni skuteczny.



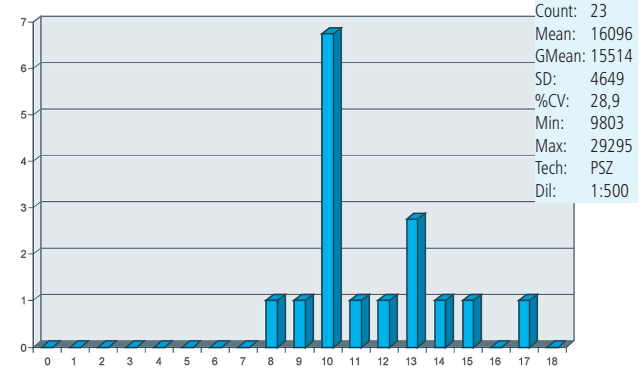
Ryc. 9. Stado rodzicielskie brojlerów immunizowane dwukrotnie szczepionką pośrednią w 16 i 26 dniu życia . Krew do badań pobrano od ptaków w wieku 11 tygodni . Zgodnie z danymi wzorcowymi podanymi w tabeli II uzyskaną odporność należy ocenić jako zadowalającą.



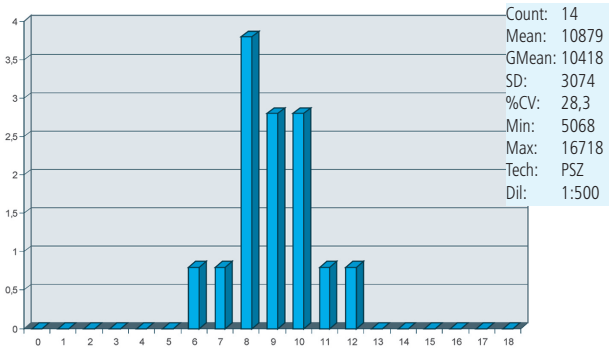
Ryc. 10. Stado rodzicielskie brojlerów immunizowane w 16 i 26 dniu oraz w 12 tyg. życia szczepionką pośrednią. Krew do badań pobrano od ptaków w wieku 16 tygodni . Zgodnie z danymi wzorcowymi podanymi w tabeli 2 uzyskaną od--porność należy ocenić jako zadowalającą . Taki wynik potwierdza prawidłową technikę szczepienia i wysoką sprawność układu odpornościowego ptaków.



Ryc.11. Stado rodzicielskie brojlerów immunizowane w 16 i 26 dniu oraz w 12 tyg. życia żywą szczepionką pośrednią oraz w 18 tygodniu szcze-pionką inaktywowaną. Krew do badań pobrano od ptaków w wieku 35 tygodni. Stado dobrze uodpornione przeciwko chorobie Gumboro. Miano przeciwciał i stosunkowo niski współczynnik zmienności dają gwarancje,że potomstwo po tych rodzicach będzie dobrze zabezpieczone przed wczesnymi zakażeniami wirusem choroby Gumboro, a ułożenie programu skutecznego szczepienia nie będzie również zbyt trudne.



Ryc.12. Wzorcowy wynik badania w bardzo dobrze immunizowanym stadzie rodzicielskim brojlerów. Krew do badań pobrano od ptaków w wieku 52 tygodni. Stado było szczepione w 14 i 22 dniu oraz w 12 tyg. życia żywą szczepionką pośrednią oraz w 19 tygodniu szczepionką inaktywowaną.



Ryc.13. Racjonalna immunoprofilaktyka w przepierzanych stadach rodzicielskich brojlerów wymaga zastosowania monitoringu serologicznego. Przedstawiony wynik badania uzyskano badając krew pobraną od kur w wieku 77 tygodni. Mimo poddania tego stada procesowi przepierzania uzyskane miano i współczynnik zmienności należy uznać za zadowalający.

Zasady ustalania optymalnego terminu szczepienia przeciwko chorobie Gumboro przy pomocy formuły Deventer

We wszystkich starszych formułach podstawą do ustaleń jest średnia, liczona z mian ustalonych dla wszystkich prób. W stadzie, w którym miana przeciwciał matczynych są wyrównane, nie stanowi to większego problemu. W praktyce stopień zróżnicowania mian jest najczęściej bardzo duży, na przykład z powodu pochodzenia kurcząt z kilku różnych stad rodzicielskich lub ze stad, które nie były zaszczepione szczepionką inaktywowaną. W formule Deventer ustalenia nie są oparte na średniej z wszystkich mian, ale na wartości określonej dla jego części (wyrażonej w %). Parametrem standardowym jest 75 %. Generalnym założeniem jest fakt, że nie można zwlekać ze szczepieniem stada do momentu aż ostatni ptak może być zaszczepiony. Może to narazić całe stado na ryzyko zachorowania przez zbyt długi okres. Poza tym nie jest niezbędnym oczekiwanie, aż ostatni ptak w stadzie będzie mógł być skutecznie zaszczepiony, ponieważ szczepionka prowadzi do powstania siewstwa trwającego przez kilkanaście dni. Tak więc jeśli część ptaków nie zostanie skutecznie uodporniona w danym momencie (z powodu zbyt dużej ilości przeciwciał matczynych) to zostaną one doszczepiane przez wirus szczepionkowy znajdujący się w środowisku (wydalany przez te 75 % stada, które zostało skutecznie zaszczepione). Dla ustalenia, jaki procent ptaków musi być zaszczepiony bezpośrednio (przez szczepionkę), ważny jest fakt, że wirus szczepionkowy łatwiej rozprzestrzenia się (na inne kurczęta ze stada) kiedy ptaki są utrzymywane na ściółce niż w klatkach. Poza tym wirus zawarty w szczepionkach gorących rozprzestrzenia się łatwiej niż bardziej atenuowany zarazek zawarty w szczepionkach pośrednich. Należy mieć na uwadze, że szczepionki pośrednie nie dają wysokiego siewstwa w przypadku ptaków utrzymywanych w klatkach.

Jeżeli jest możliwe oczekiwanie do momentu kiedy 90% stada będzie mogło być zaszcze-pione, formuła Deventer może ustalić i w tym przypadku optymalny termin szczepienia. Jeżeli występuje duże zróżnicowanie mian lub wskazane jest dwukrotne lub wielokrotne szczepienie to formuła może ustalić optymalny termin szczepienia, w którym np. 40% i 90% lub 20% i 70% stada może być skutecznie zaszczepione. Szczepionki stosowane w immunoprofilaktyce choroby Gumboro różnią się między innymi zdolnością do przełamywania bariery przeciwciał matczynych. Szczepionki gorące i pośrednie plus mogą skutecznie uodparniać przy wyższych mianach przeciwciał matczynych niż szczepionki pośrednie. Dla szczepionek pośrednich plus miano, przy którym wirus przełamuje barierę przeciwciał matczynych, wynosi 500 (IDEXX ELISA). Dla szczepionek pośrednich miano, przy którym następuje przełamanie bariery tych przeciwciał wynosi około 125 (IDEXX ELISA). Jeżeli używa się innych szczepionek należy używać innych mian, zgodnie z zaleceniami podanymi przez producenta szczepionki.

Dla zobrazowania zasad na jakich opiera się formuła Deventer podano poniższy przykład.

Dwadzieścia trzy próby od 1 dniowych piskląt brojlerów zostało przebadanych w celu ustalenia poziomu przeciwciał (IDEXX ELISA) i ich wartości wynoszą od 6268 do 13297 (tabela 3). Szczepionka, której chce użyć lekarz weterynarii opiekujący się stadem jest szczepionką pośrednią, która skutecznie przełamuje barierę przeciwciał przy mianie 125.

Kurczęta z najniższym poziomem przeciwciał mogą być szczepione 17 dnia + 3 dni (kompensacja wynikająca z pobierania krwi w 1 dniu życia – patrz tabela 5), czyli w 20 dniu po pobraniu krwi do badania (patrz tabela 4). Ptaki z najwyższym mianem mogą być szczepione w 20+ 3 dniu, czyli w 23 dniu od pobrania krwi. Różnica wynosi tylko 3 dni. Świadczy to o dużym wyrównaniu mian w stadzie. Do określenia kiedy 75% (parametr standardowy) stada może zostać skuteczne zaszczepione odrzucamy 5 surowic, o najwyższych mianach. Najwyższe miano, które pozostało reprezentuje 75 % stada. Próbka ta ma miano 11031, należy więc czekać

1.	6268
2.	6848
3.	7232
4.	7752
5.	8587
6.	9364
7.	9713
8.	9713
9.	9927
10.	10178
11.	10302
12.	10426
13.	10676
14.	10792
15.	10803
16.	11031
17.	11031
18.	111281
19.	11855
20.	12038
21.	12167
22.	13182
23.	13297

Tab.3. Przykład ustalania optymalnego terminu szczepienia przeciwko chorobie Gumboro przy pomocy formuły Deventer.

Dni oczekiwania	Miano u brojlerów T 0,5=3 dni / Miano przełamywania bariery przeciwciał matczynych 125	Miano u ptaków stad reprodukcyjnych T 0,5=4,5 dnia / Miano przełamywania przeciwciał matczynych 125	Miano u niosek T 0,5=5,5 dnia / Miano przełamywania bariery przeciwciał matczynych 125
3	256		
4	322	256	
5	407	289	256
6	512	327	294
7	645	369	329
8	815	417	372
9	1024	471	423
10	1290	532	481
11	1629	602	545
12	2048	679	617
13	2580	768	699
14	3258	868	798
15	4096	981	904
16	5159	1108	1024
17	6502	1253	1160
18	8192	1416	1314
19	10319	1600	1499
20	13024	1807	1698
21	16384	2042	1924
22	20608	2308	2180
23	26048	2608	2469
24		2947	2798
25		3330	3269
26		3763	3591
27		4552	4096
28		4805	4640
29		5430	5257
30		6135	5997
31		6933	6794
32		7834	7697

Tab.4. Metoda DEVENTER wyliczanie optymalnego terminu szczepienia dla poszczególnych rodzajów stad - podano dni oczekiwania na obniżenie się mian do poziomu, przy którym nastąpi skuteczna immunizacja.

19+3=22 dni od pobrania krwi do szczepienia (patrz tabela 4). Jeżeli właściciel kurcząt chciałby zaszczepić szczepionką pośrednią plus (z mianem przełamywanym przez wirus wynoszącym 500) szczepienie może być wykonane 6 dni wcześniej.

Dokonywanie wszystkich tych obliczeń jest stosunkowo proste, wygodniej jest jednak zastosować w tym celu program komputerowy X Chek (TM) firmy IDEXX, który oblicza optymalną datę immunizacji automatycznie.

Wiek ptaków w chwili pobierania krwi	Dodatkowe dni oczekiwania
0	4
1	3
2	2
3	1
4 lub starsze	0

Tab.5. Metoda DEVENTER – wyliczanie optymalnego terminu szczepienia – redukcja „Efektu woreczka żółtkowego" (objaśnienia w tekście).

PRZY OKREŚLENIU OPTYMALNEGO TERMINU SZCZEPIENIA (NIEZALEŻNIE OD UŻYWANEJ FORMUŁY) POWINNO SIĘ ROZPATRYWAĆ KILKA CZYNNIKÓW:

1. LICZBA PRÓB.

Do uzyskania reprezentatywnej próby ze stada należy pobrać co najmniej 18 prób z kurnika (optymalna liczba prób – 23). Ustalenia dokonane na podstawie ilości mniejszej niż 18 prób są mniej wiarygodne. Wiele razy producenci próbują „oszczędzać" pieniądze badając 10 – 15 próbek, jest to jednak postępowanie całkowicie pozbawione sensu!

2. JAKOŚĆ KURCZĄT OD KTÓRYCH POBIERA SIĘ PRÓBY.

Należy pobierać próby od ptaków o najwyższej jakości. Nie należy pobierać do badań serologicznych krwi od kurcząt wybrakowanych (odwodnionych lub chorych), gdyż nie są one reprezentatywne dla całego stada. Jeżeli te warunki nie są spełnione, ustalenie optymalnego terminu szczepienia jest mało wiarygodne i nie można na nim polegać.

Przewaga formuły Deventer nad starszymi formułami:

1. Odpowiednia dla wszystkich typów ptaków: broilerów, niosek i stad zarodowych.
2. Elastyczne daty pobierania krwi do testów od 1 do10 dnia po wylęgu.
3. Umożliwia określanie terminu immunizacji dla stad zarówno z wyrównanym jak i niejednorodnym poziomem przeciwciał w obrębie stada.
4. Odpowiednia dla wszystkich rodzajów szczepionek przeciwko chorobie Gumboro.

UWAGA

1. Formuła Deventer jest oparta na okresie półtrwania przeciwciał, który jest określony przy pomocy testu złotego standardu czyli testu neutralizacji wirusowej (VN). Okres półtrwania mie-rzony przy użyciu testu immunoenzymatycznego IDEXX ELISA jest identyczny z uzyskanym przy pomocy testu VN.

Podane powyżej, miana przy których następuje przełamywanie poziomu przeciwciał matczynych przez wirus szczepionkowy są określone dla testów firmy IDEXX i nie mogą byś używane z innymi testami ELISA, chyba że zostanie spraw-dzone, że można to robić. Jeżeli ktoś używa Formuły Deventer do innych niż IDEXX ELISA testów ELISA bez sprawdzenia, że można to robić (porównanie okresu półtrwania do testu VN, porównanie miana przy którym następuje przełamywanie bariery przeciwciał matczynych) może dojść do groźnych w skutkach pomyłek.

2. Określenie daty szczepienia przeciwko chorobie Gumboro (przy użyciu jakiejkolwiek formuły) jest narzędziem pomocnym, zwiększającym efektywność szczepienia. Nie ma jednak gwarancji, że jego stosowanie w 100% będzie skuteczne. Nie może ono bowiem zastępować niskiego stanu higieny, silnego zagrożenia epizootycznego (bardzo zjadliwe wirusy terenowe przełamują barierę przeciwciał matczynych na poziomie znacznie wyższym niż jakakolwiek szczepionka) czy złego sposobu podania szczepionki.

GRUPA MIAN	ZAKRES MIAN W GRUPIE
0	0 - 396
1	397 - 399
2	1000 - 1999
3	2000 - 2999
4	3000 - 3999
5	4000 - 4999
6	5000- 5999
7	6000 - 6999
8	8000 - 9999
9	10000 - 11999
10	12000 - 12999
11	14000 - 14999
12	16000 - 16999
13	18000 - 19999
14	20000 - 21999
15	22000 - 23999
16	24000 - 27999
17	28000 - 31999
18	32000

Problemy w praktycznej diagnostyce białaczek ptasich

Najważniejsze choroby nowotworowe drobiu mają etiologię wirusową i wywoływane są przez zarazki należące do rodziny Herpesviridae (wirus choroby Mareka) i Retroviridae (wirus białaczki ptasiej – Avian leucosis virus – ALV, wirus retikuloendoteliozy - Reticuloendotheliosis virus – REV oraz wirus choroby limfoproliferacyjnej -Lymphoproliferative disease virus -LPDV).Wszystkie te wirusy różnią się od siebie budową, strukturą antygenową, znaczeniem epidemiologicznym, ale wszystkie one mają zdolność do wywoływania zmian rozrostowych i z tego względu powinny być brane pod uwagę w diagnozie różnicowej.

Najważniejsze choroby nowotworowe drobiu mają etiologię wirusową i wywoływane są przez zarazki należące do rodziny Herpesviridae (wirus choroby Mareka) i Retroviridae (wirus białaczki ptasiej – Avian leucosis virus – ALV, wirus retikuloendoteliozy -Reticuloendotheliosis virus – REV oraz wirus choroby limfoproliferacyjnej -Lymphoproliferative disease virus -LPDV).Wszystkie te wirusy różnią się od siebie budową, strukturą antygenową, znaczeniem epidemiologicznym, ale wszystkie one mają zdolność do wywoływania zmian rozrostowych i z tego względu powinny być brane pod uwagę w diagnozie różnicowej.

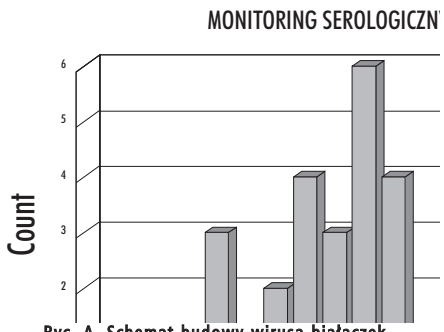
Wprowadzenie do biologii retrowirusów

W praktyce u drobiu największe znaczenie ma białaczka limfoidalna w przebiegu, której tworzą się nacieki komórek zależnych od tor-

by Fabrycjusza (limfocytów B) w wątrobie, śledzionie i innych narządach wewnętrznych oraz mielocytomatoza przy której dochodzi do tworzenia nowotworów zbudowanych z komórek mielocytarnych, która jak się przyjmuje, jest wywoływana przez wirus podtypu J.

Budowa wirusa

Genom wirusów białaczkowych zbudowany jest z kwasu rybonukleinowego – RNA (Ryc.A). Poszczególne fragmenty nici RNA tworzą geny kodujące informację o syntezie struktur tworzących cząstkę wirusową (Tab.1.). Najbardziej istotną, z punktu widzenia diagnostyki, cechą w budowie retrowirusów ptasich jest białkowa otoczka zawierająca antygen swoisty dla poszczególnych podtypów wirusa. W diagnostyce wykorzystuje się typowo swoistą glikoproteinę oznaczoną jako gp 85. Otoczka retrowirusów zawiera także dużo lipidów stąd duża ich wrażliwość na rozpuszczalniki organiczne (eter, chloroform i detergenty). Równie ważne znaczenie diagnostyczne ma jedno z 5 białek strukturalnych genomu określane jako p27 – będące proteiną grupowo swoistą (Ryc.A).



Ryc. A. Schemat budowy wirusa białaczek ptasich (FOLIA)

Biologia wirusów białaczkowych jest bardzo skomplikowana. Ich wspólną cechą jest posiadanie enzymu odwrotnej transkryptazy, która pozwala na syntetyzowanie przez komórki gospodarza DNA komplementarnego do RNA wirusa (prowirus).Wirusy należące do tej grupy mogą być ułomne – defektywne i nie posiadać zdolności do wytwarzania otoczki wirusowej, a więc kompletnej, w pełni zakaźnej cząstki wirusowej są to tak zwane wirusy endogenne. Obecność endogennych locii wirusowych wykazano u wszystkich obecnie hodowanych ras kur. Badania filogenetyczne wykazały,że są one zawarte już w materiale genetycznym dzikiego kura domowego. Mimo, iż większość współcześnie hodowanych kur jest narażonych na zakażenie i posiada zarówno endogenny jak i egzogenny wirus w swoim materiale genetycznym to jednak tylko u niewielkiego odsetka ptaków dochodzi do rozwoju zmian nowotworowych.

Wirusy egzogenne posiadają w swoim genomie gen env kodujący syntezę otoczki (Tab.1.). Wirusy takie mogą dzięki temu występować bądź jako wirusy pozakomórkowe, bądź jako prowirusy włączone do genomu komórki gospodarza. Wirusy ułomne potrzebują do namnażania wirusów pomocniczych.

Wirusy białaczek ptasich są dzielone na grupy zależnie od budowy glikoprotein otoczki. Podgrupy A,B,C i D tworzą egzogenne wirusy atakujące kury, z których należące do grup A i B mają najważniejsze znaczenie (Tab.2.). Do podgrupy E należy rodzina endogennych wirusów reprezentowanych przez prowirusowe DNA zintegrowane z genomem komórki gospodarza.Niektóre z tych genów wirusowych w ogóle nie ulegają ekspresji.

Payne i współpracownicy w 1991 opisali nową podgrupę J w obrębie wirusów białaczkowych (Tab.2.). Wirusy należące do nowej grupy izolowano w zasadzie w stadach rodzicielskich kierunku mięsnego. Nie stwierdzono, aby zakażenia nimi miały znaczenie u innych poza kurami gatunkami drobiu, marginalne znaczenie mają one także u kur kierunku nieśnego. Mimo,że wirusy białaczkowe są w stanie wywołać zmiany nowotworowe w różnych tkankach, to najczęściej wirusy z podgrupy A i B wywołują białaczkę limfoidalną, natomiast wirus podtypu J mielocytomatozę – czyli nowotworowy rozrost niedojrzałych białych krwinek szpiku kostnego.

Wyniki przeprowadzonych ostatnio badań na strukturą nowej podgrupy wykazały, że jest ona najprawdopodobniej efektem rekombinacji między wirusami grup A i B z endogennym wirusem podgrupy E.

Ważniejsze geny wirusów białaczek ptasich	
Nazwa genu	**Funkcja genu**
env	Gen kodujący sekwencję białej otoczki wirusowej (gp85)
gag	Gen kodujący syntezę materiału genetycznego wirusa i białek rdzenia wirusowego (p27)
pol	Gen kodujący enzym - RNA zależną polimerazę DNA (odwrotną transkryptazę)
onc	Gen kodujący białka indukujące transformację nowotworową komórek gospodarza

Tabela I. Ważniejsze geny wirusów białaczek ptasich

Pod-grupa wirusa	Wrażliwy gatunek	Rodzaj indukowanego nowotworu	Występowanie infekcji	Wzorcowy izolat
A	Kura	Białaczka limfoidalna mięśniak	Częste	HPRS - F 42
B	Kura	Białaczka limfoidalna mięśniak	Częste	RAV - 2
C	Kura	Białaczka limfoidalna mięśniak	Rzadkie	RAV - 7
D	Kura	Białaczka limfoidalna mięśniak	Rzadkie	RAV - 50
E	Kura	Wirus endogenny		RAV - 0
F	Bażant obrożny	Wirus endogenny		
G	Bażant złocisty	Wirus endogenny		
H	Kuropatwa węgierska	Wirus endogenny		
I	Przepiórka kalifornijska	Wirus endogenny		
J	Kura - linie mięsne	Mielocytoza	Częste - kierunek mięsny	HPRS 103

Tabela II. Podział wirusów białaczek ptasich (wg. PAYNA I WSP. 1997)

Tyg. życia	ND	IBD	IB
0-1	+	+	+
5	+	+	+
10			
12	+	+	+
18	+	+	+
24	+	+	+
35	+	+	+
45	+	+	+
60	+	+	+

Ryc.B. Diagram obrazujący naturalne drogi rozprzestrzeniania się wirusa białaczek ptasich (FOLIA)

PISKLĘTA JEDNODNIOWE

Przeglądowe badanie pierwszego kału (mekonium) lub wymazu z kloaki w kierunku wykrycia obecności wirusów białaczki - test grupowo swoisty wykrywający białko p27
WYNIK DODATNI ewentualne wykonanie testu w kierunku potwierdzenia obecności przeciwciał ALV-typ A,B (D)
WYNIK DODATNI - ewentualne wykonanie testu w kierunku potwierdzenia obecności przeciwciał ALV-typ J
WYNIK DODATNI - dalsze postępowanie ze stadem w zależności od stopnia zakażenia

PTAKI W TRAKCIE ODCHOWU I PRODUKCJI

- Wystąpienie upadków i stwierdzenie zmian nasuwających podejrzenie choroby nowotworowej - BADANIE HISTOPATOLOGICZNE
- ANTYGEN - Elisa (antygen grupowy a następnie antygen ALV-AB najlepiej w wieku powyżej 12-14 tygodni wymazy , lub białko jaja)
- PRZECIWCIAŁA Elisa-Serologia (przeciwciała anty typ A,B, J)
- Bardzo dokładna sekcja wszystkich padłych ptaków (koguty !) w celu wykazania obecności zmian nowotworowych szczegółowa dokumentacja zootechniczna !!!

Ryc.C. Praktyczna diagnostyka zakażeń białaczkowych w stadach rodzicielskich brojlerów

Narząd	Białaczka limfoidalna	Białaczka erytroblastyczna	Białaczka mieloblastyczna	Mielocytomaoza
Narząd	Białaczka limfoidalna	Białaczka erytroblastyczna	Białaczka mieloblastyczna	Mielocytomaoza
Wątroba	Znacznie powiększona, liczne drobne lub większe guzy ,średnio twarda	Średnio powiększona, obrzęk naciekowy, kolor wiśniowo czerwony, mahoniowy, miękka konsystencja	Znacznie powiększona, obrzęk naciekowy cętkowana powierzchnia, twarda	Często zażółcona, biaława , guzy
Śledziona	Najczęściej powiększona, liczne drobne lub większe guzy,konsystencja miękka	Często powiększona, kolor wiśniowy, bardzo miękka	Często powiększona, obrzęk naciekowy, cętkowana, miękka	Powiększona, często guzy
Torba Fabrycjusza	Najczęściej powiększona, guzy	Brak zmian	Czasami guzy	Brak zmian
Szpik kostny	Częste zmiany szpik jest białawy o bardziej zbitej konsystencji	Półpłynny ,wiśniowo-czerwony rozlane szare nacieki	Rozlane żółtoszare nacieki	Często nacieki nowotworowe
Krew	Niekiedy białaczka limfoblastyczna	Białaczka erytroblastyczna, niedojrzałe erytrocyty, anemia,	Białaczka mieloblastyczna	Brak leukemii
Cytologia i histopatologia	Limfoblasty, głównie nacieki poza naczyniowe	Erytroblasty nacieki wewnątrz naczyniowe	Mieloblasty nacieki wew. i zew. naczyniowe	Mielocyty, nacieki pozanaczyniowe
Inne narządy lub tkanki, w których lokalizują się zmiany	Nerki , jajnik	-	Nerki , jajnik	Kości mostka, żeber i kręgów, żuchwy oraz miednicy, nerki, jajnik, mięśnie, płuca

Tab. 3. Sekcyjna diagnostyka różnicowa białaczek (wg. Payne i wsp., 1990)

Epidemiologia zakażeń retrowirusami

Egzogenne wirusy białaczkowe w tym i nowo opisane należące do podgrupy J rozprzestrzeniają się na drodze pionowej, to jest od zakażonych matek przez jajo na potomstwo, jak również na drodze zakażenia horyzontalnego od zakażonych osobników na ptaki zdrowe. Z epizootycznego punktu widzenia pionowa droga zakażenia jest najistotniejsza, bowiem przyczynia się ona do przekazywania zarazka między pokoleniami. Wirusy endogenne są przekazywane przez komórki rozrodcze zgodnie z mendlowskimi prawami dziedziczenia zarówno przez kury jak i koguty. Wirusy egzogenne rozprzestrzeniają się na drodze zakażenia pionowego (od zakażonej nioski przez jajo na potomstwo) i horyzontalnego (przez kontakt osobnika chorego z osobnikiem zdrowym). Przekazywanie wirusa ma miejsce głownie w jajowodzie. Badania w mikroskopie elektronowym wykazały,że wirus intensywnie replikuje się w komórkach tworzących białko jaja zlokalizowanych w części głównej jajowodu (magnum). Wirus znajduje się również w jajniku, ale zakażenie transowarialne odgrywa mniej istotna rolę w rozprzestrzenianiu się białaczek. Należy pamiętać o tym, iż kury są znacznie bardziej wrażliwe na zakażenie wirusami białaczek niż koguty, to jednak samce ogrywają istotną rolę w rozprzestrzenianiu się infekcji. U zakażonych samców wirus namnaża się intensywnie w całym układzie rozrodczym za wyjątkiem plemników, stąd wirus jest obecny w nasieniu. Koguty te stają się ważnym źródłem zakażenia dla zdrowych niosek a do infekcji dochodzi podczas krycia.

Zakażone pionowo zarodki kurze znajdują się w stanie tolerancji immunologicznej: po wylęgu wyklute z nich osobniki nie wytwarzają przeciwciał seroneutralizujacych i przekazują regularnie duże ilości wirusa do jaj. W zależności od stanu immunologicznego w chorym stadzie wyróżnia się 4 grupy ptaków(Ryc.B).

Grupa 1 – U ptaków należących do tej grupy nie występuje wiremia, nie wytwarzają one specyficznych przeciwciał, nie sieją także wirusa do środowiska są to więc ptaki wolne od zakażenia egzogennym wirusem białaczkowym (V -; A-).

Grupa 2 – Należą tu ptaki z wiremią (czyli posiadające wirus białaczki w krwi); nie produkujące przeciwciał, ale wydalające bardzo dużą ilość wirusa do środowiska (siewstwo) to grupa ptaków ma najważniejsze znaczenie w rozprzestrzenianiu się infekcji wirusem białaczki w stadzie.

Grupa 3 – należące tu nioski nie są wiremiczne,; wytwarzają przeciwciała i nie są siewcami wirusa. Ptaki należące do tej grupy można wykryć za pomocą badań serologicznych.

Grupa 4 – nioski z tej grupy również wykrywa się w testach serologicznych, bowiem wytwarzają one specyficzne przeciwciała, występuje u nich również wiremia i w sposób nieregularny wydalają one wirus do środowiska (siewstwo).

Ptaki ze stad wolnych od zakażenia i osobniki genetyczne oporne należą do grupy 1. W zakażonym stadzie część ptaków (najczęściej poniżej10 %) należy do grupy 2 zdecydowana większość do grupy 3 i tylko niewielka część grupy 4. Zakaźny wirus znajduje się w ślinie i w kale stanowiąc źródło infekcji dla innych ptaków.

Narząd	Choroba Mareka	Białaczka limfoidalna
Nerwy obwodowe	Nacieki komórkowe	Brak zmian
Torba Fabrycjusza	Atrofia folikułów, międzyfolikularne nacieki komórkowe	Rozplem limfoblastów w folikułach , powiększenie i zatarcie struktury folikułów
Śledziona	Rozlane nacieki komórek różnopostaciowych	Ogniskowe nacieki limfoblastów

Tab.4. Zestawienie i ocena zmian patomorfologicznych istotnych w diagnostyce różnicowej choroby Mareka i białaczki limfoidalnej kur (Kozaczyński ,1996)

Diagnostyka zakażeń retrowirusowych

Diagnostyka kliniczna

Zakażenie wirusami białaczek, w tym również należącymi do podgrupy J, nie przebiega z żadnymi specyficznymi objawami klinicznymi. Najczęściej choroba rozpoczyna się około 16-18 tygodnia życia, choć bardzo zjadliwe izolaty mogą powodować upadki ptaków już w 4-9 tygodniu życia. Początkowo pojawiają się sporadyczne padnięcia, które wraz z wiekiem narastają. W chorych stadach stwierdza się niższą nieśność, obniżoną wylęgowość i stałe utrzymywanie się niewielkich upadków. W typowym liczącym 6 500 ptaków stadzie rodzicielskim brojlerów z powodu białaczki może padać do 8-10 sztuk dziennie. Mało specyficzne objawy chorobowe mogą wystąpić również u kogutów, które są osłabione, występuje u nich atrofia mięsni i sporadyczny wzrost upadków. Wszystkie te objawy kliniczne są tak mało charakterystyczne, że mogą być one przeoczone, lub łączone z innymi chorobami.

Rodzaj badanego materiału	Linie szybko opierzające się	Linie wolno opierzające się
Wymazy z kloaki	0-5 %	0-15 %
Białko jaja	0-3 %	0-6 %
Meconium	0-3 %	0-6 %

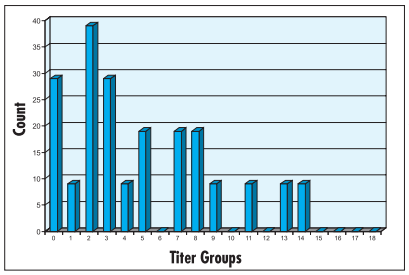
Tab. 5, Odsetek prób fałszywie dodatnich przy badaniu różnych rodzajów materiału w niezakażonych stadach rodzicielskich brojlerów utrzymywanych w normalnych* warunkach środowiskowych przy pomocy testu ELISA wykrywającego antygen p27. (wg. Vosa 1999)

Diagnostyka sekcyjna

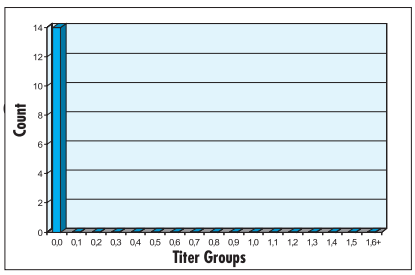
Obecność charakterystycznych zmian sekcyjnych może nasuwać podejrzenie,że danym stadzie występuje białaczka. W tabeli 3 zebrano ważniejsze dane różnicujące zmiany sekcyjne w przebiegu białaczek ptasich. W histopatologicznej diagnozie różnicowej należy uwzględnić chorobę Mareka (Tab.5).

Wiek ptaków	Rzekomy pomór drobiu	Choroba Gumboro	Zak. zapalen oskrzel
0-3 dzień	+	+	+
Badanie w ubojni	+	+	+

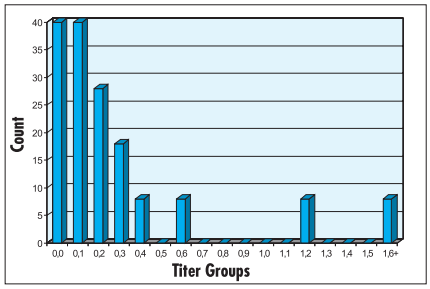
Rodzaj stada	Miejsce pobrania krwi	Wielkość próbki
Stada reprodukcyjne i nieśne	Żyła skrzydłowa	23 próby na stado
Stada brojlerowskie	Żyła skrzydłowa, serce	23 próby na stado



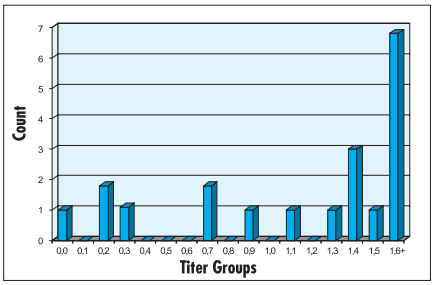
Ryc.3. Dodatni wynik badania serologicznego z zastosowaniem testu wykrywającego przeciwciała przeciwko białku gp85 wirusa podgrupy J (test ALV-J Ab ELISA firmy Idexx). Stado w wieku 18 tygodni, krew pobierano od kogutów, klinicznie u kur w tym stadzie sporadycznie stwierdzano zmiany rozrostowe w narządach wew. u kur. Zwraca uwagę wysokie miano przeciwciał u stosunkowo młodych ptaków. Jest bardzo ciekawe, że wynik badania kur z tego stada, wykazał, iż około 50 % samic nie miało przeciwciał, a miano wynosiło



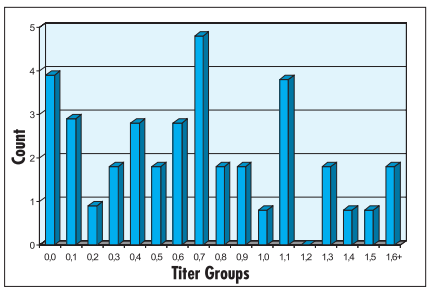
Ryc.4. Ujemy wynik badania z zastosowaniem testu wykrywającego antygen grupowo swoisty (p27) wirusów białaczek ptasich. (test ALV-Ag ELISA firmy Idexx). Stado rodzicielskie brojlerów, ptaki jednodniowe, wymazy z kloaki pobierano od kurek. Przy ocenie wyniku badań w teście firmy Idexx wykrywającym antygen jako wartość graniczną między wynikiem dodatnim a ujemnym przyjmuje się stosunek S/P powyżej 0,2. Stosunek S/P niższy lub równy 0,2 świadczy, że w badanym materiale nie stwierdza się białka p27.



Ryc.5. Dodatni wynik badania z zastosowaniem testu wykrywającego antygen grupowo swoisty (p27) wirusów białaczek ptasich. (test ALV-Ag ELISA firmy Idexx). Stado rodzicielskie brojlerów, ptaki jednodniowe, wymazy z kloaki pobierano od kurek. W 9 próbach stwierdzono obecność antygenu p27.



Ryc.6. Dodatni wynik badania z zastosowaniem testu wykrywającego antygen grupowo swoisty (p27) wirusów białaczek ptasich. (test ALV-Ag ELISA firmy Idexx). Stado rodzicielskie brojlerów, ptaki w wieku 26 tyg. z rozpoznaną sekcyjnie i potwierdzoną histopatologicznie białaczką limfoidalną. Wymazy z kloaki pobierano od kurek.



Ryc.7. Dodatni wynik badania z zastosowaniem testu wykrywającego antygen grupowo swoisty (p27) wirusów białaczek ptasich. (test ALV-Ag ELISA firmy Idexx). Stado rodzicielskie brojlerów, ptaki w wieku 48 tyg. z rozpoznaną sekcyjnie i potwierdzoną histopatologicznie białaczką limfoidalną. Do badania pobierano jaja wylęgowe.

DIAGNOSTYKA LABORATORYJNA

I. Bezpośrednie metody diagnostyki zakażeń białaczkowych (wykrywanie wirusa lub jego fragmentów)

I.A. Izolacja wirusa

Izolacja wirusów białaczkowych jest stosunkowo skomplikowana,droga i bardzo pracochłonna, a więc zasadniczo nieprzydatna do praktycznej diagnostyki zakażeń wirusowych, winna być ona jednak podejmowana dla celów naukowych – identyfikacji i klasyfikacji izolatów występujących w kraju. Wirus najczęściej izoluje się z krwi (plazma i limfocyty) lub z białka jaja. Izolacji dokonuje się najczęściej w hodowli fibroblastów zarodka kurzego, a okres czasu potrzebny do namnożenia wirusa trwa przez 7-10 dni. Teoretycznie jest możliwe, ale tylko dla celów naukowych, różnicowanie między wirusami endogennymi i egzogennymi, konieczne jest jednak posiadanie specjalnych linii komórkowych opornych na zakażenie wirusem endogennym (C/E). W piśmiennictwie spotyka się dane o stosowaniu takich testów jak RIF (Resistance Inducig Faktor), czy jego modyfikacji w postaci testu PM (Phenotypic Mixing Test) są bardzo czasochłonne i trwają 2-3 tygodnie. Zasadą tych testów jest wykorzystanie zjawiska interferencji – hodowle tkankowe pochodzące z zarodków zakażonych wirusem białaczki są odporne na zakażenie wirusem mięsaka Rousa.

I.B. Badanie histopatologiczne – mikroskopia elektronowa

W warunkach krajowych jest to najbardziej wiarygodny, ekonomicznie uzasadniony i rozstrzygający test do diagnozowania białaczek w tym i białaczki wywołanej przez wirus podtypu J. Do badania należy dostarczyć żywe ptaki w liczbie adekwatnej do stopnia zagrożenia, im większe upadki tym więcej ptaków należy zbadać. W przypadkach wątpliwych badanie należy powtórzyć. Rozpoznanie białaczki nie wyklucza obecności w danym stadzie zakażenia wirusem choroby Mareka. W tabeli IV podano najistotniejsze kryteria histologicznej diagnostyki różnicowej choroby Mareka i białaczki limfoidalnej.

I.C. Odczyn wiązania dopełniacza

W diagnostyce laboratoryjnej białaczek ptasich może być także zastosowany test COFAL (Complement Fixation Avian Leucosis). Odczyn ten polega na wiązaniu dopełniacza przeprowadzonego przy użyciu surowicy chomika lub świnki morskiej, które były zakażone szczepem Schmidt-Ruppin wirusa mięsaka Rousa. Metodą tą można wykryć obecność swoistego antygenu w komórkach zakażonych wirusami białaczki. Test ten nie znajduje obecnie szerszego zastosowania.

I.D ELISA – Antygen

Płytki testowe przeznaczone do wykrywania antygenu wirusa białaczek ptasich (Double Antibody Sandwich Enzyme –Linked Immunosorbent assays -DAS-ELISA) są opłaszczone przeciwciałami skierowanymi przeciwko białku p27 (antygen grupowo swoisty) są więc w stanie wykazać obecność w badanym materiale wszystkich podtypów wirusa białaczki (od A do J). Test wykrywający antygen jest specyficzny, czuły, tani, dostępny w kraju i łatwy do wykonania, jednak interpreta-

RODZAJ TESTU	ZASTOSOWANIE	RODZAJ BADANEGO MATERIAŁU
ELISA -Przeciwciała	Podtyp A,B, (D) Podtyp J	Surowica
ELISA -Antygen	Antygen p.-27 - wszystkie podtypy	Mekonium, wymazy z kloaki, białko jaj, hodowle komórkowe
Izolacja wirusa + ELISA antygen	Wszystkie podtypy	krew, tkanki nowotworowo zmienione, jaja
PCR	Większość szczepów - podtyp J	Hodowle wirusa , szczepionki , krew, tkanki nowotworowo zmienione, jaja

Tab .6. Aktualnie dostępne testy diagnostyczne stosowane w rozpoznawaniu zakażeń retrowirusami.

cja jego wyników powinna być bardzo rozważna. Test ten jest powszechnie stosowany przez firmy hodowlane do prac selekcyjnych i tylko i wyłącznie na tym poziomie, z rozrodu są eliminowane wszystkie sztuki reagujące dodatnio. Jak wcześniej wspomniano skomplikowana biologia wirusów białaczkowych powoduje,iż wynik ujemny wcale nie oznacza, że dana nioska nie przekazuje wirusa do jaj, również wynik dodatni nie przemawia za rozpoznaniem zakażenia, bowiem test ten nie różnicuje obecności antygenu wirusa endogennego od antygenu zjadliwego wirusa egzogennego. Na podstawie wyników uzyskanych w tym badaniu, na poziomie stada rodzicielskiego brojlerów nie eliminuje się ptaków z rozrodu! Jak wynika z danych zawartych w tabeli 5 najbardziej polecanym materiałem do badań jest białko jaj, następnie wymaz z kloaki i meconium. Nie poleca się natomiast badania krwi niosek,ze względu na możliwość istnienia w dużym odsetku reakcji fałszywie dodatnich (wirus endogenny). Badania przeglądowe prowadzone w ramach monitoringu serologicznego zdrowych stad rodzicielskich brojlerów w okresie odchowu mogą liczyć 23 próby (wymazy z kloaki lub mekonium), natomiast przy badaniu stad w okresie produkcji należy w ramach monitoringu badać 60 jaj. W przypadku uzyskania wyników dodatnich należy badać liczbę prób adekwatną do stopnia zagrożenia.

Prowadzone w ostatnim okresie badania wymazów z kloaki pobranych od jednodniowych piskląt ze stad rodzicielskich brojlerów importowanych z różnych krajów europejskich wskazują na znaczne zróżnicowanie wyników pomiędzy poszczególnymi krzyżówkami, natomiast w obrębie poszczególnych linii produkcyjnych z reguły jest bardzo duża powtarzalność wyników. Innymi słowy,jeśli krzyżówka produkcyjna danej firmy jest ujemna, to z reguły w kolejnych badaniach, kolejne stada tej firmy są również ujemne. Celem zobrazowania wyników uzyskiwanych w badaniach własnych na rycinach 4-7 przedstawiono kilka typowych rezultatów.

I.E Western – blot

Jest bardzo użyteczna metoda do badań naukowych umożliwiająca na analizę białek strukturalnych retrowirusów. Obecnie ta metoda nie ma zastosowania w diagnostyce przypadków terenowych.

I.F. Wykrywanie wirusowego kodu nukleinowego – (RNA – DNA) – Hybrydyzacja, metody amplifikacyjne – np. PCR

Są to nowoczesne metody diagnostyczne wprowadzane obecnie w kraju do badań naukowych,, stąd nie ma w praktyce możliwości ci zastosowania do diagnostyki białaczek.

II. Pośrednie metody diagnostyki zakażeń wirusami białaczek (wykrywanie specyficznych przeciwciał)

II.A.SN

Do wykonania testu seroneutralizacji używa się specjalnych linii fibroblastów.Test ten należy do metod, stosowanych do szczegółowych badań porównawczych w obrębie retrowirusów. Jego znaczenie w praktycznej diagnostyce zakażeń białaczkowych jest niewielkie.

II.B. ELISA – przeciwciała

Jak wynika z danych zawartych w tabeli 6 aktualnie dostępne są testy wykrywające przeciwciała przeciwko wirusom należącym do podgrup A, B (D) i J.

Wcześniej wspomniano, że interpretacja wyników badań serologicznych w kierunku wykrycia przeciwciał przeciwko retrowirusom jest niesłychanie skomplikowana. Wynik ujemny badań jednodniowych piskląt nie musi świadczyć,że dany ptak jest nie zakażony wirusem białaczki, bowiem może on pochodzić po niosce z grupy II, która nie wytwarza przeciwciał przekazuje natomiast wirus do jaj. Możemy teoretycznie założyć, że jeśli nioski stada prarodzicielskiego (stada rodzicielskiego po którym pochodzi stado rodzicielskie brojlerów) nie miały kontaktu z wirusem białaczki to nie powinny wytworzyć specyficznych przeciwciał i przekazać ich swemu potomstwu,więc wynik badania jednodniowych piskląt ze stada rodzicielskiego brojlerów powinien być negatywny. Przeprowadzone badania własne potwierdzają ten pogląd, bowiem w stadach ze stwierdzoną białaczką mielocytarną poziom przeciwciał u jednodniowych piskląt był stosunkowo wysoki i w ekstremalnych przypadkach miana przekraczały 20 000. Na rycinach 1-3 podano typowe wyniki badań w kierunku wykrycia przeciwciał przeciwko wirusowi podtypu J uzyskane w badaniach własnych.

Problemy w praktycznej diagnostyce mykoplazmozy kur

Mykoplazmozy kur to najczęściej choroby o przebiegu przewlekłym, objawiające się zmianami patologicznymi ze strony układu oddechowego, stawów i układu rozrodczego. Objawy towarzyszące mykoplazmozom są bardzo zróżnicowane i stosunkowo mało specyficzne, dlatego też diagnoza zakażeń mykoplazmami wymaga badań laboratoryjnych polegających albo na wykrywaniu patogenu albo specyficznych przeciwciał. Znaczenie zakażeń mykoplazmami jest tak duże, iż w wielu krajach przyjmowane są programy zwalczania tych infekcji. W Unii Europejskiej zasady walki z mykoplazmami u drobiu reguluje Dyrektywa 90/539/EEC.

Do patogennych dla kur gatunków mykoplazm należą – Mycoplasma gallisepticum (MG). Mykoplazmy są bardzo małymi bakteriami, które podczas ewolucji utraciły wiele genów, co powoduje, że ich genom jest najmniejszy z wszystkich znanych organizmów (Bradbury, 1999). Ważniejsze dane z biologii mykoplazm podano na ryc. A. Zadziwiające jest, że mimo prostej budowy oraz bardzo dużej wrażliwości na działanie czynników środowiskowych, walka z nimi w wielkotowarowej produkcji drobiarskiej jest bardzo trudna i często niezbyt skuteczna.

Epidemiologia zakażeń mykoplazmami

Przekazywanie mykoplazm do jaj jest najbardziej intensywne w 4--6. tygodniu po zakażeniu, po tym okresie może ono sporadycznie lub całkowicie wygasnąć. Do zakażenia mykoplazmami może dojść w czasie wspólnego wylęgu ptaków wrażliwych z zakażonymi. Różnice w rozprzestrzenianiu się infekcji są w znacznym stopniu spowodowane przez negatywny wpływ warunków środowiskowych. Obserwuje się, że MS rozprzestrzenia się znacznie szybciej niż MG. O możliwościach zakażenia w trakcie odchowu i produkcji w znacznym

Ryc. A. Podstawowe właściwości biologiczne mykoplazm kur

- Najmniejsze bakterie – tylko 125-500 nm, Gram-ujemne.
- Kształt polimorficzny, najczęściej ziarenkowaty.
- Brak sztywnej ściany komórkowej.
- Niewiele genów – dlatego wykorzystują komórki gospodarza.
- Pasożyt wewnątrz i zewnątrz komórkowy.
- Rosną na specjalnych pożywkach z dodatkiem cholesterolu.
- Zlepiają krwinki czerwone ptaków i niektórych ssaków.
- Namnażają się na zarodka kurzych.
- Bardzo słabo patogenne.
- Podstępnie otwierają wrota innym patogenom.
- Potrafią zmienić strukturę antygenową powierzchni – „ukrywać się przed układem odpornościowym organizmu".

stopniu decyduje zabezpieczenie sanitarne fermy. Mykoplazmy mogą być przenoszone zarówno przez czynniki ożywione (np. ptaki dzikie) lub czynniki nieożywione (np. odzież, sprzęt). W praktyce istotnym źródłem zakażenie może być ściółka z poprzednich cykli produkcyjnych składowana w pobliżu fermy. Zagrożenie stanowią także bliskość sąsiadujących ferm. Występowaniu mykoplazmozy u kur sprzyjają liczne czynniki usposabiające, których szczegółową charakterystykę zawiera ryc. B. Natomiast na ryc. C i D podano wybrane dane o mykoplazmozie układu oddechowego i stawowego.

Diagnostyka zakażeń mykoplazmozowych

Diagnostyka kliniczna

Zakażenie MG objawia się głównie nieżytem błon śluzowych układu oddechowego, czemu towarzyszy często brak apetytu, obniżenie masy ciała i gorsze wykorzystanie paszy. W przebiegu choroby u ptaków w okresie produkcji obserwuje się wynoszący 20-30 % spadek nieśności. W przebiegu syndromu CRD z reguły nie obserwuje się wzrostu upadków. MS może wywoływać kulawizny i zakaźne zapalenie torebki stawowej.

Diagnostyka sekcyjna

W łagodnych zakażeniach wywołanych tylko przez Mycoplasma gallisepticum zmiany mogą być ograniczone do obecności niewielkiej ilości śluzu w tchawicy oraz zmętnienia ścian worków powietrznych, które niekiedy mogą być pokryte skąpą ilością włóknika. Jeśli czynnikiem wikłającym jest Escerichia coli stwierdza się obecność serowatego wysięku zwłaszcza w workach powietrznych. Zmiany sekcyjne wywołane przez MS mają charakter wysięku w stawach oraz w błonach torebek ścięgnowych.

Diagnostyka laboratoryjna

Możliwości diagnostyki Mykoplazmy u kur w kraju są dość duże, choć ze względów ekonomicznych niektóre z nich są rzadko stosowane. Z testów omówionych w tabeli I najczęściej wykonywane są: test aglutynacji płytowej i testy immnoenzymatyczne. Największe osiągnięcia w izolacji i charakterystyce mykoplazm ma Zakład Chorób Drobiu Państwowego w Puławach.

I. Bezpośrednie metody diagnostyki zakażeń mykoplazmowych (wykrywanie zarazka lub jego materiału genetycznego)

I. A. Izolacja mykoplazm

Izolacja mykoplazm jest stosunkowo skomplikowana, droga i bardzo pracochłonna. Do izolacji potrzebne są specjalistyczne pożywki, zwykle zawierające produkty rozkładu białek oraz dodatek surowicy, ekstraktu drożdżowego glukozy lub argininy oraz inhibitory wzrostu bakterii. Hodowle inkubuje się w 37 C, najlepiej przy zwiększonej zawartości dwutlenku węgla w środowisku inkubacji. Pośmiertnie próbki pobiera się z jamy nosowej, zatok, tchawicy, worków powietrznych, dróg rozrodczych lub stawów. Przyżyciowo próbki pobierane są jako wymazy z tchawicy, szczeliny podniebiennej, kloaki lub prącia. Wycinki narządów lub wymazy powinny być transportowane do laboratorium w odpowiednim podłożu transportowym w jak najkrótszym czasie od ich pobrania. Rozwój kolonii mykoplazm trwa zwykle kilka dni. Typowe kolonie mają wygląd „jaj osadzonych".

I.B. Wykrywanie kodu genetycznego mykoplazm (hybrydyzacja, metody amplifikacyjne – np. PCR)

Nie wchodząc w szczegóły techniczne można stwierdzić, że dzięki metodzie PCR można amplifikować fragmenty DNA uzyskując miliony kopii. Wykrywanie tej amplifikowanej sekwencji można wykonać przy pomocy elektroforezy w żelu agarowym lub hybrydyzacji z odpowiednią próbą (sonda genetyczna). W praktyce są dostępne standardowe zestawy (Mycoplasmsma gallisepticum DNA Probe Test, Mycoplasma synoviae DNA Probe Test firmy Idexx), których można używać do wykrywania chorych stad i różnicowania wyizolowanych szczepów bakterii.

II. Pośrednie metody diagnostyki zakażeń mykoplazmami (wykrywanie specyficznych przeciwciał)

Ptaki, które przechorowały kliniczną postać Mykoplazmy wykazują pewien poziom odporności, jednak w stadzie infekcja utrzymuje się i stado takie jest źródłem zakażenia dla innych wrażliwych stad, utrzymuje się również przekazywanie zarazków drogą pionową. Zasadnicze znaczenie mają przeciwciała obecne w wydzielinie dróg oddechowych. Obecność przeciwciał nie jest skorelowana ze stopniem odporności. Przeciwciała nie chronią przed zakażeniem, objawami klinicznymi i nosicielstwem.

II.A. Szybka aglutynacja płytowa

Test szybkiej aglutynacji płytowej jest szybki, względnie tani i wrażliwy, jest on szeroko stosowany do wstępnych przeglądowych badań serologicznych zarówno do monitoringu serologicznego, jak i do badań diagnostycznych. Przy badaniu w kierunku wykrycia przeciwciał przeciwko M. gallisepticum. Niekiedy obserwuje się niespecyficzne reakcje dodatnie w stadach zakażonych M. synoviae lub zaszczepionych. W Polsce test ten przeprowadza się przy pomocy oficjalnie dopuszczonych do stosowania antygenów komercyjnych (charakterystyka w tabeli II).

Ryc. B. Najważniejsze czynniki wpływające na występowanie i nasilenia zmian w przebiegu zakażeń mykoplazmami u kur

- System produkcji – mikroklimat kurnika (zła wentylacja – amoniak, przeciągi, zapylenie, zimno – „choroba z oszczędności").
- Zagęszczenie.
- Choroby układu oddechowego (ND, IB, SHS, ospa, ILT, adenowirusy, reowirusy).
- Każdy rodzaj stresu środowiskowego.
- Choroby immunosupresyjne.

Zakaźna anemia kurcząt, choroba Gumbro, choroba Mareka, zakażenia reowirusowe, białaczka limfoidalna, retikloendotelioza

- Zbyt obciążający program immunoprofilaktyki w okresie pisklęcym.
- Szczepienia inhalacyjne, obcinanie dziobów, palców, seksowanie.
- Niedobory witaminowe – witaminy A.

Ryc. C. Podstawowe dane o mykoplazmie dróg oddechowych kur.

Mykoplazma dróg oddechowych kur

- Przyczyna

  Najważniejszą rolę w wywoływaniu zmian w układzie oddechowym odgrywa Mycoplasma gallisepticum (MG) oraz ostatnio również Mycoplasma synoviae. Czynnikami, które powodują uaktywnienie się zakażenia są często wirusy atakujące układ oddechowy, takie jak wirus ND, czy wirus IB. Często dochodzi również do wtórnych powikłań bakteryjnych. Bakterią wikłającą jest najczęściej E.coli. Stres wywołany przemieszczaniem ptaków, obcinaniem dziobów oraz niesprzyjające warunki środowiskowe (zimno, zła wentylacja…) to czynniki usposabiające do wybuchu choroby.
- Źródła i drogi zakażenia

  Najważniejszą i najgroźniejszą w praktyce drogą rozprzestrzeniania się jest możliwość pionowego przekazywania Mycoplasma gallisepticus przez zakażone nioski na ich potomstwo. Ponadto choroba może przenosić się drogą zakażenia poziomego, drogą aerogenną przez bezpośredni kontakt z zakażonymi ptakami.
- Okres inkubacji

  Okres inkubacji wynosi od 4 dni do 3 tygodni.
- Wrażliwy gatunek

  Kury i indyki.
- Objawy kliniczne

  Młode kurczęta (brojlery lub kurczęta raz nieśnych) wykazują objawy ze strony układu oddechowego, którym towarzyszy często brak apetytu, obniżenie masy ciała i gorsze wykorzystanie paszy. U ptaków dorosłych najczęściej stwierdza się objawy zapalne ze strony układu oddechowego: kichanie, kaszel i duszność. W przebiegu choroby u ptaków w okresie produkcji obserwuje się wynoszący 20-30% spadek nieśności. W przebiegu syndromu CRD z reguły nie obserwuje się gwałtownego wzrostu upadków. Straty ekonomiczne spowodowane przez ten zespół chorobowy wynikają z obniżenia przyrostów, gorszego wykorzystania paszy, zwłaszcza u brojlerów, choć ma to znaczenia także w stadach reprodukcyjnych niosek jaj konsumpcyjnych. Choroba może powodować bardzo duże straty ekonomiczne w odchowie brojlerów, natomiast straty w stadach nieśnych są z reguły mniejsze.
- Zmiany sekcyjne

  Stwierdza się przekrwienie i zmiany zapalne w błonie śluzowej tchawicy, niekiedy z obecnością serowatego wysięku w orkach powietrznych, zwłaszcza jeśli czynnikiem wikłającym jest Escherichia coli. W łagodnych zakażeniach wywołanych tylko przez Mycoplasma gallisepticum zmiany mogą być ograniczone do obecności niewielkiej ilości śluzu w tchawicy oraz zmętnienia ścian worków powietrznych, które niekiedy mogą być pokryte niewielką ilością włóknika. U indyków przy infekcji MG dochodzi najczęściej do przewlekłych zmian zapalnych w zatokach podoczodołowych.
- Rozpoznanie

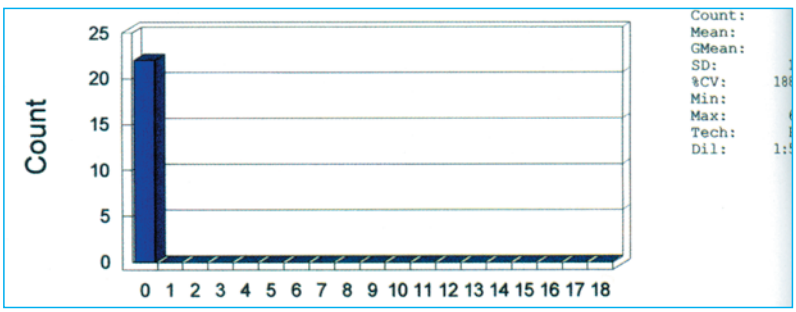
  Rozpoznanie zakażenia MG jest możliwe przy pomocy badania serologicznego (odczyn aglutynacji płytkowej z antygenem MG lub testy ELISA), badań sekcyjnych, a potwierdzeniem diagnozy jest izolacja MG z tchawicy lub worków powietrznych chorych ptaków.
- Diagnoza różnicowa

  Podobne objawy kliniczne ze strony układu oddechowego stwierdza się w przebiegu rzekomego pomoru drobiu, zakaźnego zaplenia oskrzeli jak również zakażenia E.coli.
- Leczenie

  Leczenie zakażeń MG u kur i indyków przy pomocy odpowiednio dobranych chemioterapeutyków jest ekonomicznie uzasadnione i skuteczne. Mimo to w walce z chorobą stosowane są również szczepienia i działania mające na celu przerwanie pionowej drogi zakażenia.

  W praktyce ograniczenie pionowej drogi zakażenia uzyskuje się przez traktowanie jaj wylęgowych antybiotykami. Chemioterapeutyk wprowadza się do jaj metodą iniekcyjną lub poprzez zanurzenie jaj w roztworze leku, w specjalnej komorze podciśnieniowej (tzw. dipping). Aktualnie w tym celu stosuje się enrofloksacynę podawaną najwcześniej osiemnastodniowym zarodkom metodą in ovo. Iniekcje wykonywane są przy pomocy specjalnych, zautomatyzowanych urządzeń (Invoject © system).

  Badania serologiczne mające na celu wykrycie osobników zakażonych MG jest rutynową metodą walki z tą chorobą w stadach reprodukcyjnych i pozwala na eliminację z rozrodu zakażonych stad.



Ryc. 1. Ujemny wynik badania serologicznego z zastosowaniem testu wykrywającego przeciwciała przeciwko antygenom Mycoplasma gallisepticum i Mycoplasma synoviae (MG.MS) (UWAGA: wszystkie badania wykonano przy pomocy testu Mycoplasma gallisepticum/synoviae Antibody MG/MS firmy Idexx). Krew do badania pobrano od jednodniowych piskląt odchowanych od nioski jaj konsumpcyjnych.

Ryc. D. Podstawowe dane o mykoplazmie stawów u kurcząt

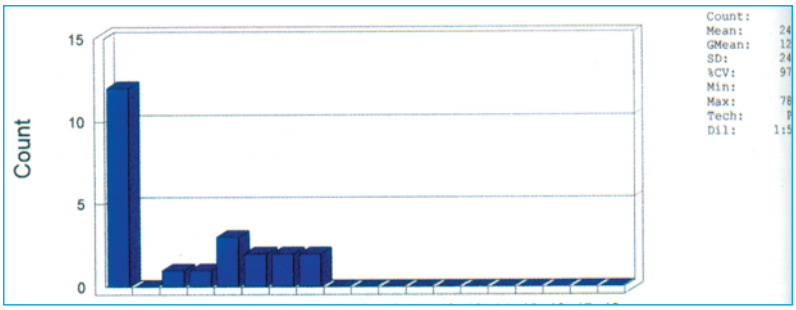
Mykoplazma stawów u kurcząt

- Przyczyna
  Choroba jest wywoływana przez Mycoplasma synovie (MS)
- Źródła i drogi zakażenia
  Główną drogą rozprzestrzeniania się mykoplazmozy jest zakażenie pionowe (zakażenie przez jaja składane przez zakażone nioski). Zakażenie poziome ma miejsce poprzez kontakt z ptakami chorymi lub skażonym mykoplazmami: sprzętem, odzieżą, butami, skrzynkami na jaja itp.).
- Objawy kliniczne i zmiany sekcyjne
  Objawy kliniczne są bardzo zróżnicowane od zakażenia bezobjawowego, poprzez łagodne zmiany ze strony układu oddechowego, do procesów zapalnych w workach powietrznych i zapalenia pochewek ścięgnowych z obrzękiem stawów nóg i skrzydeł oraz zapalenia mostkowego worka powietrznego z tworzeniem pęcherzy podskórnych na mostku. Najbardziej charakterystyczna jest obecność kremowego wysięku w torebkach stawowych, obejmujących również ścięgno. Zapalenie worków powietrznych z nalotami włóknika występuje zwłaszcza przy dołączeniu się zakażenia E.coli.
- Rozpoznanie
  Obok opisanych zmian w postawieniu diagnozy pomocne jest również badanie serologiczne z zastosowaniem antygenu M. synoviae. Decydujące znaczenie ma jednak izolacja zarazka z chorobowo zmienionych stawów.
- Diagnoza różnicowa
  Podobne zmiany zapalne w pochewkach ścięgniowych i stawach obserwuje się przy zakażeniu gronkowcami, a zbliżone przy wirusowym zapaleniu stawów i pochewek ścięgniowych. Należy mieć na uwadze, że możliwe są infekcje mieszane tymi patogenami.
- Leczenie i zapobieganie
  W leczeniu mykoplazmozy stawowej stosuje się wiele rodzajów antybiotyków (tetracykliny, erytromycyna, tyloza, tiamulina, jozamycyna, fluorocholiny itp.). W profilaktyce choroby największe znaczenie powinna mieć eliminacja z rozrodu zakażonych niosek w oparciu o wyniki badań serologicznych z antygenem M.synoviae.

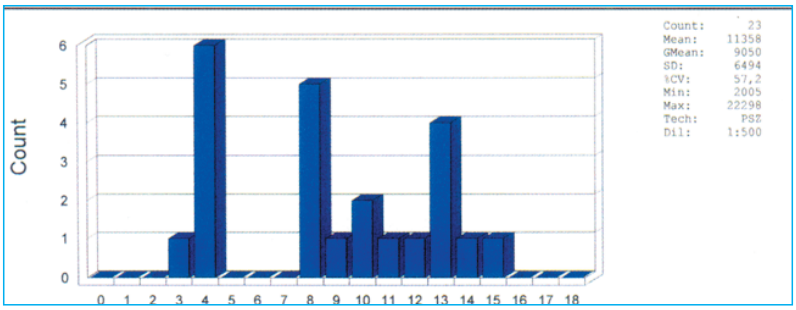
Test aglutenacji jest szczególnie polecany do wykrywania „wczesnych" zakażeń w stadzie.

II.B. Test zahamowania hemagluteancji

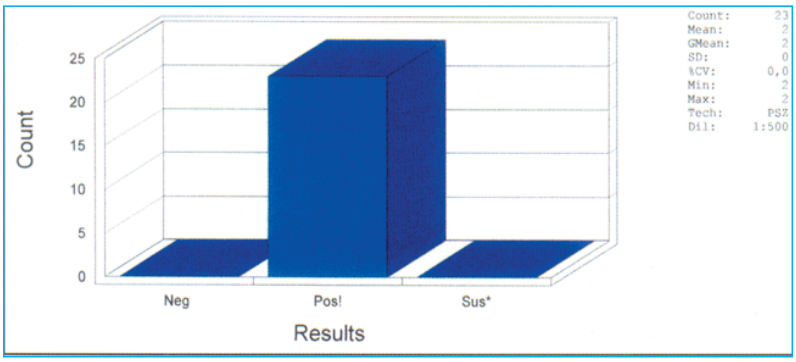
Test zahamowania hemaglutenacji (HI) jest aktualnie używany do potwierdzenia wyników pozytywnych uzyska-



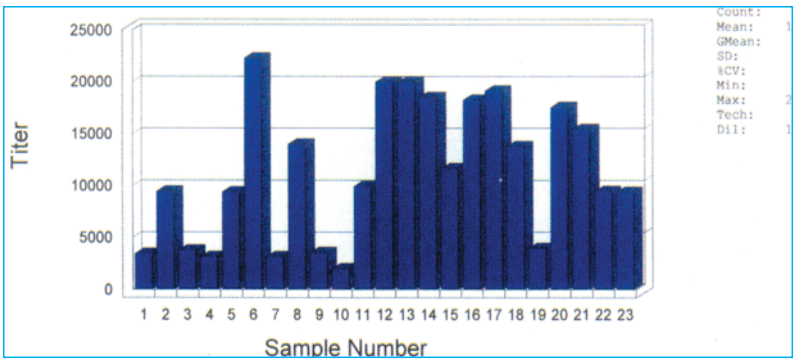
Ryc. 2. Dodatni wynik badania serologicznego z zastosowaniem testu wykrywającego przeciwciała przeciwko antygenom MG/MS. Krew do badania pobrano od jednodniowych piskląt odchowanych od nioski jaj konsumpcyjnych. Duży współczynnik zmienności i duża różnica między minimalnym i maksymalnym mianem mogą sugerować „świeże" (aktualnie rozwijające się) zakażenie mykoplazmami. W sytuacji takiej prawdopodobna jest również transmisja pionowa infekcji. W celu wykrycia należy wykonać badanie w trzecim tygodniu życia. Serokonwersja będzie potwierdzenie transmisji pionowej zakażenia.



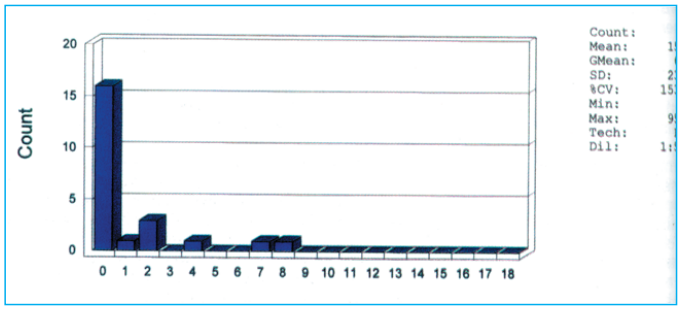
Ryc. 3. Dodatni wynik badania serologicznego z zastosowaniem testu wykrywającego przeciwciała przeciwko antygenom MG/MS. Krew do badania pobrano od 17-tygodniowych kurek odchowanych od nioski jaj konsumpcyjnych. W stadzie zanotowano zaburzenia ze strony narządu ruchu. Celem określenia gatunku Mykoplazm konieczne jest badanie z antygen MG/MS. należy mieć na uwadze, że w praktyce jest możliwe równoczesne zakażenie obydwoma gatunkami mykoplazm. Wynik przedstawiono w postaci histogramu, na którym zobrazowano liczby surowic (Count) należących do poszczególnych grup mian (Titer Groups).



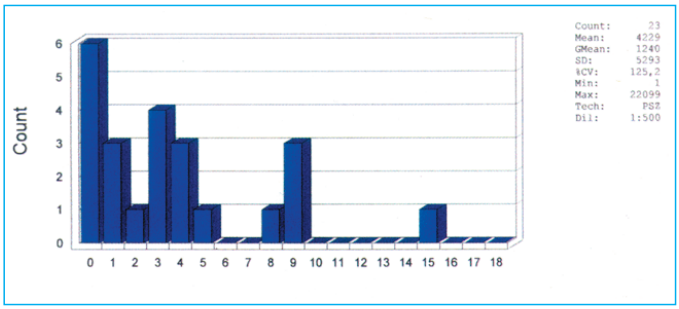
Ryc. 4. Zastosowanie programu komputerowego Xcheck pozwala na różne formy graficzne prezentacji wyniku. Na tej i następnej rycinie przedstawiono wybrane przykłady. Wynik tego samego badania, co przedstawiony na Ryc. 3 tym razem histogram określa wynik badania (Bin Graph-Result). Skróty oznaczają: Neg – liczba surowic ujemnych, Pos – liczba surowic dodatnich, Sus – liczba surowic wątpliwych. Wynik w tej formie pozwala na stwierdzenie ile ptaków posiada przeciwciała.



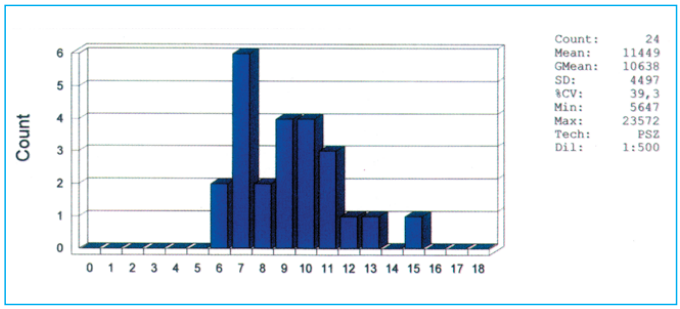
Ryc. 5. Wynik tego samego badania, którego wynik przedstawiono na ryc. 3. Tym razem histogram przedstawia indywidualne miana (Titer) poszczególnych surowic (Sample number).



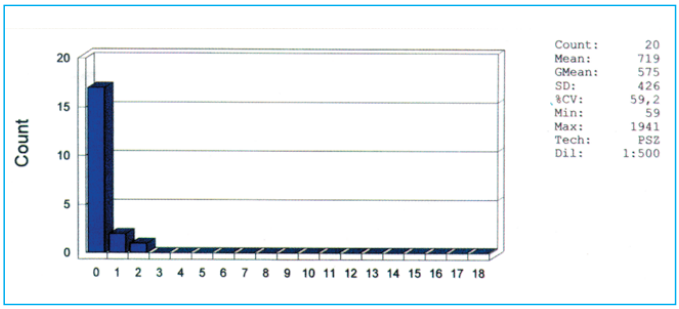
Ryc. 6. Dodatni wynik badania serologicznego z zastosowaniem testu wykrywającego przeciwciał przeciwko antygenom MG/MS. Krew do badania pobrano z jednodniowych piskląt ze stada rodzicielskiego brojlerów. Duży współczynnik zmienności i duża różnica między minimalnym i maksymalnym mianem mogą sugerować „świeże" (aktualnie rozwijające się) zakażenie mykoplazmami. W sytuacji takiej prawdopodobna jest również transmisja pionowa infekcji.



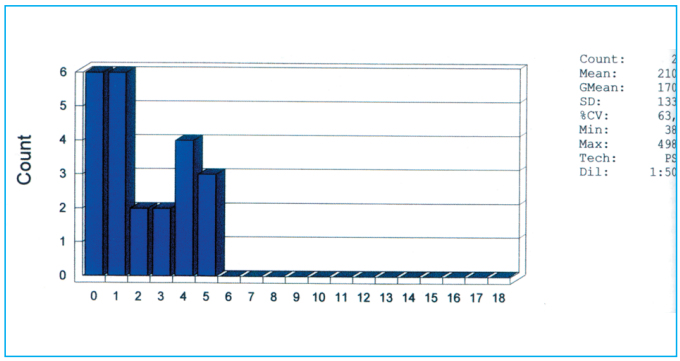
Ryc. 7. Dodatni wynik badania serologicznego z zastosowaniem testu wykrywającego przeciwciała antygenom MG/MS. Krew do badania pobrano od 11-tygodniowych kurek ze stada rodzicielskiego brojlerów. Duży współczynnik zmienności i duża różnica między minimalnym i maksymalnym mianem wskazują na „świeże" (aktualnie rozwijające się) zakażenie mykoplazmami. Stado to badane w pierwszym dniu życia było seropozytywne. W chwili badania w stadzie wystąpiły objawy kliniczne mykoplazmy układu oddechowego. Po uzyskaniu wyniku badania rozpoczęto leczenie.



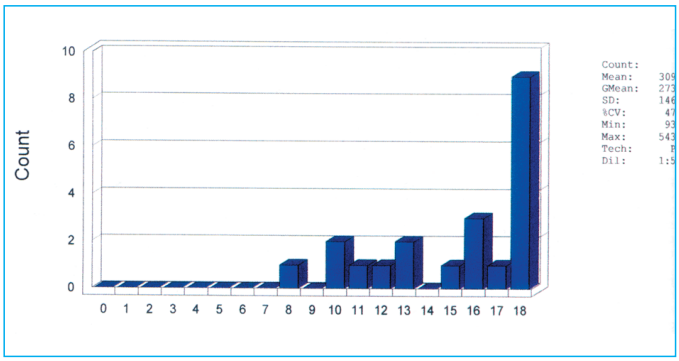
Ryc. 8. Dodatni wynik badania serologicznego z zastosowanie testu wykrywającego przeciwciała przeciwko antygenom MG/MS. Krew do badania pobrano od 24-tygodniowych kur ze stada rodzicielskigo brojlerów, badanego wcześniej w 1. tygodniu (ryc. 7). Jest to typowy przykład rozwoju zakażenia mykoplazmami w okresie odchowu. W okresie 13 tygodni miano geomtryczne przeciwciał wzrosło około 10 razy. Zwraca uwagę znaczne obniżenie współczynika CV i zmniejszenie różnic między mianem minimalnym i maksymalnym.



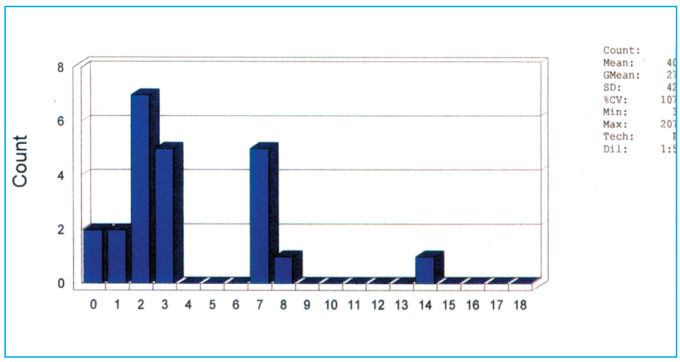
Ryc. 9. Dodatni wynik badania serologicznego z zastosowaniem testu wykrywającego przeciwciała antygenom MG/MS. Krew do badania pobrano od 11-tygodniowych kurek ze stada rodzicielskiego brojlerów. Jest to typowy przykład rozwoju zakażenia mykoplazmami w okresie odchowu. Badane stado było seronegatywne w pierwszym dniu życia. Bardzo niskie i nieliczne miana dodatnie wskazują na rozpoczynający się proces zakażenia. W zależności od postępowania profilaktycznego i warunków środowiskowych proces będzie miał charakter typowej infekcji bezobjawowej lub przybierze postać kliniczną.



Ryc. 10. Wyniki badania serologicznego z zastosowaniem testu wykrywającego przeciwciała przeciwko antygenom MG/MS. Krew do badani pobrano od 17-tygodniowych kurek ze stada rodzicielskiego brojlerów, badanego wcześniej w 11 tygodniu (ryc. 9). Widoczny jest wzrost zmian minimalnych i maksymalnych. W stadzie nie obserwowano objawów klinicznych mykoplazmy.



Ryc. 11. Wyniki badania serologicznego z zastosowaniem testu wykrywającego przeciwciała przeciwko antygenom MG/MS. Krew do badani pobrano od 17-tygodniowych kurek ze stada rodzicielskiego brojlerów. w stadzie obserwowano od kilku tygodni objawy kliniczne mykoplazmozy. Zwracają bardzo wysokie zmiany



Ryc. 12. Wyniki badania serologicznego z zastosowaniem testu wykrywającego przeciwciała przeciwko antygenom MG/MS. Krew do badani pobrano od 5-tygodniowy brojlerów z bardzo dużymi upadkami (17%) i silnymi zaburzeniami ze strony układu oddechowego.

Tabela I. Aktualnie dostępne testy diagnostyczne stosowane w diagnostyce mykoplazm kur

Rodzaj testu	Zastosowanie	Rodzaj badanego materiału
Izolacja zarazka	Wszystkie gatunki – ograniczone – drogie, pracochłonne, trudne	Krew, tkanki zmienione, jaja
Test aglutynacji płytowej (MG, MS)	Diagnostyka gatunkowo swoista – szerokie zastosowanie – metoda zawsze użyteczna!	Pełna krew, surowica nie zamrażana
Test zahamowania hemaglutynacji	Diagnostyka gatunkowo swoista – test trudny technicznie	Surowica
ELISA – Przeciwciała	Diagnostyka gatunkowo swoista – technika prosta, tania – możliwe reakcje fałszywie dodatnie	Surowica
PCR	Wszystkie gatunki – technika nieodległej przyszłości	Hodowle zarazka, szczepionki, krew, tkanki zmienione, jaja

Tabela II. Krótka charakterystyka antygenów używanych do diagnostyki serologicznej mykoplazmy kur w teście aglutynacji płytowej

Nazwa preparatu	Mycoplasma gallsepticum Antigen Noblis	Mycognost	Mycoplasma synoviae Antigen Noblis
Producent	Intervet	Biowet Puławy	Intervet
Skład	Szczep S-6 Adler Mycoplasma Gallisepticum	Szczep S-6 Mycoplasma Gallisepticum	Szczep WVU-1853 Mycoplasma synoviae
Wskazania	Wykrywanie zakażenia MG	Wykrywanie nosicieli MG	Wykrywanie zakażenia MS
Stosowanie	Aglutynacja ze świeżą kroplą krwi	Aglutynacja ze świeżą kroplą krwi	Aglutynacja ze świeżą kroplą krwi
Opakowanie	Fiolka zawierająca 10 ml	5 fiolek a 10 ml	Fiolka zawierająca 10 ml

nych w szybkiej aglutynacji płytowej ELISA. Opracowanie antygenu mykoplazmowego do tego testu jest trudne do przygotowania i standaryzacji i z tego względu jest on niedostępny komercyjnie/

II.C ELISA

W praktyce test immunoenzymatyczny jest najczęściej stosowany do rozpoznawania zakażeń mykoplazmami u kur. Dostępne są komercyjne zestawy przeznaczone do wykrywania infekcji wywołanych przez MG (np. Mycoplasma gallisepticum Antibody Test – firmy Idexx) lub MS (Mycoplasma synoviae Antibody Test – firmy Idexx) lub zestawy wykrywające przeciwciała przeciwko MG i MS równocześnie (Mycoplasma gallisepticum/synoviae Antibody Test). Zalecany aktualnie program monitoringu serologicznego jest przedstawiony na ryc. E i F.

Przykłady interpretacji wyników monitoringu serologicznego pokazano na ryc. 1-12 i jak na nich widać wyniki badań serologicznych są użyteczne zarówno w diagnostyce jak i monitoringu mykoplazmozy kur.

Ryc. E. Praktyczna diagnostyka serologiczna mykoplazmozy w stadach rodzicielskich brojlerów

Pisklęta jednodniowe
Przeglądowe badanie surowic bezpośrednio po wstawieniu:
Wynik dodatni – dalsze postępowanie ze stadem w zależności od stopnia zakażenia. (W praktyce – Leczenie! Szczepienie?)

Ptaki w trakcie odchowu i produkcji:
Badanie monitoringowe co 8-12 tygodni:
Wynik dodatni – dalsze postępowanie ze stadem w zależności od stopnia zakażenia. (W praktyce – Leczenie! Szczepienie?)

Ryc. F. Praktyczna diagnostyka serologiczna mykoplazmozy w stadach brojlerów

Pisklęta jednodniowe
Przeglądowe badanie surowic bezpośrednio po wstawieniu:
Wynik dodatni – dalsze postępowanie ze stadem w zależności od stopnia zakażenia. (W praktyce – Leczenie! Szczepienie?)

Ptaki w trakcie odchowu
Badanie serologiczne w 21 dniu:
Wynik dodatni – dalsze postępowanie ze stadem w zależności od stopnia zakażenia. (W praktyce – Leczenie! Szczepienie?)

- Badanie serologiczne w dniu zakończenia odchowu.
- Identyfikacja problemu dla następnego wstawienia.

Reowirusy ptasie – ukryte zagrożenie

A. Kliniczne znaczenie zakażeń reowirusami

Pierwszej izolacji reowirusów ptasich dokonali w 1954 roku Fahey i Crawley. Nazwa nadana tym patogenom jest angielskim akronimem opisującym ich właściwości gdzie:

R – respiratory (oddechowe = wirusy izolowane z układu oddechowego)
E – enteric (pokarmowe = wirusy izolowane z przewodu pokarmowego)
O – orphan (sieroce = wirusy nie związane w chwili ich izolacji z żadną znaną jednostką chorobową)

W ciągu 44 lat jakie upłynęły od pierwszej izolacji reowirusów stwierdzono,że zarazki te można izolować z układu oddechowego, przewodu pokarmowego, skóry,mózgu, szpiku kostnego, wątroby, krwi i nerek zarówno od ptaków z objawami klinicznymi jak i ptaków nie wykazujących objawów chorobowych.

Reowirusy a układ oddechowy – Obecnie przyjmuje się,że reowirusy nie odgrywają samodzielnie żadnej roli w wywoływaniu chorób układu oddechowego u drobiu. Wykazano,że zarazki te mogą wywoływać objawy ze strony tego układu, tylko jeśli ptaki nie są zakażone mykoplazmami.

Reowirusy a układ mięśniowo-stawowy – Najbardziej znaną i potwierdzoną rolą reowirusów w patologii drobiu jest ich udział w wywoływaniu zaburzeń ze strony układu ruchu.

Wirusowe zapalenie stawów i pochewek ścięgnowych
Czynnik etiologiczny: Różne patotypy reowirusów ptasich.
Objawy kliniczne: W stawie skokowym i innych zaatakowanych stawach stwierdza się bolesność i obrzęk. W przebiegu choroby notuje się znaczną, sięgającą kilkudziesięciu procent zachorowalność przy bardzo niskiej (w przypadkach nie powikłanych około 1%) śmiertelności.
Zmiany sekcyjne: Choroba występuje w wieku 4-12 tygodni u kur-

cząt brojlerów i młodzieży hodowlanej ciężkich linii kur. W obrazie klinicznym tej choroby dominuje charakterystyczna, z reguły jednostronna kulawizna.

Reowirusy a przewód pokarmowy – Reowirusy cechują się dużym powinowactwem do przewodu pokarmowego. Zmiany w przebiegu zakażeń reowirusowych lokalizują się w żołądku gruczołowym (Proventriculitis) i jelitach. Przyjmuje się,że reowirusy mają swój udział w złożonej etiopatogenezie zespołu złego wchłaniania.

Zespół złego wchłaniania

Czynnik etiologiczny: Między innymi, także reowirusy ptasie!

Objawy kliniczne: Zespół ten występuje najczęściej u kur kierunku mięsnego i indycząt. Obserwuje się zahamowanie wzrostu, bladość głowy i skoków, helikopterowe upierzenie.

Zmiany sekcyjne: Stwierdza się osteoporozę, krzywicę, martwicę główki kości udowej, zapalenie żołądka gruczołowego, zapalenie jelit oraz zmiany atroficzne w trzustce.

Reowirusy a immunosupresja – W ostatnich latach coraz częściej podkreśla się znaczenie reowirusów jako czynników wywołujących uszkodzenie układu odpornościowego. Stwierdzono, że zarazki te mają silne działanie immunosupresyjne. W trakcie infekcji dochodzi między innymi do uszkodzenia torby Fabrycjusza oraz śledziony. Obniżona jest także reaktywność limfocytów B i monocytów. Niższa jest również sprawność immunitetu komórkowego. Praktycznym skutkiem immunosupresji jest większa podatność zakażonych ptaków na infekcje innymi zarazkami oraz niższa efektywność szczepień profilaktycznych.

B. Serologia zakażeń reowirusowych

Kowenhoven i wsp. pierwsi wykazali, że krążące przeciwciała odgrywają główną rolę w zabezpieczeniu ptaków przed zakażeniem reowirusami. Wykazano również, że przeciw-ciała matczyne zabezpieczają wyklute pisklęta przed zakażeniem reowirusami drogą alimentarną.

Jak obrazuje to ryc. 1 proporcjonalnie większa śmiertelność była stwierdzona u ptaków z grup nie posiadających przeciwciał lub posiadających ich niewiele (grupa mian 0 do 2), niż w grupach z wyższym poziomem przeciwciał. Między tymi parametrami obserwowano odwrotną korelację.

Mimo, że relacja między zdolnością przeciw-ciał do neutralizacji wirusa, a ich koncentracją określoną w teście ELISA jest nieznana, wydaje się, że test immunoenzymatyczny jest użyteczny do mierzenia stopnia odporności warunkowanej przez przeciwciała matczyne. W chwili, kiedy będzie więcej dostępnych informacji na temat zależności między koncentracją przeciwciał antyreowirusowych u rodziców a ich potomstwem, będzie mógł być ustalony poziom przeciwciał zapewniający protekcję.

Jak również wynika z ryc. 1, istnieje ujemna korelacja między mianem ELISA (w chwili wylęgu), a odsetkiem ptaków wykazujących zupełną immobilizację spowodowaną zapaleniem stawów. Różny stopień zmian powodujących trudności w poruszaniu, a tym samym w dostępie do karmy i wody, powodował znaczne różnice we wzroście. Masę ciała wszystkich ptaków, które przeżyły w 22 dniu, przyjęto jako kryterium do oceny stopnia uszkadzającego wpływu zakażenia.

Jak obrazuje to ryc. 2 istnieje dodatnia korelacja między mianem ELISA w chwili wylęgu, a średnią masą ciała w 22 dniu od zakażenia.

Uzyskane wyniki potwierdzają, że przeciwciała matczyne chronią wyklute pisklęta przed patogennym wpływem podanego im per os zjadliwego wirusa. Działanie ochronne jest lepsze, jeśli miano przeciwciał mierzone testem ELISA jest wyższe. Zależności między koncentracją przeciwciał, śmiertelnością, bezwzględną immobilizacją a zwłaszcza masą ciała mają charakter liniowy.

Ważniejsze geny wirusów białaczek ptasich

Nazwa genu	Funkcja genu
env	Gen kodujący sekwencję białej otoczki wirusowej (gp85)
gag	Gen kodujący syntezę materiału genetycznego wirusa i białek rdzenia wirusowego (p27)
pol	Gen kodujący enzym - RNA zależną polimerazę DNA (odwrotną transkryptazę)
onc	Gen kodujący białka indukujące transformację nowotworową komórek gospodarza

Ryc. 1. Zależność między mianem przeciwciał matczynych a śmiertelnością i immobilizacją, w ciągu 3 tyg. obserwacji po podaniu per os jednodniowym brojlerom zjadliwego reowirusa.

Grupa mian ELISA

Podgrupa wirusa	Wrażliwy gatunek	Rodzaj indukowanego nowotworu	Występowanie infekcji	Wzorcowy izolat
A	Kura	Białaczka limfoidalna mięśniak	Częste	HPRS - F 42
B	Kura	Białaczka limfoidalna mięśniak	Częste	RAV - 2
C	Kura	Białaczka limfoidalna mięśniak	Rzadkie	RAV - 7
D	Kura	Białaczka limfoidalna mięśniak	Rzadkie	RAV - 50
E	Kura	Wirus endogenny		RAV - 0
F	Bażant obrożny	Wirus endogenny		
G	Bażant złocisty	Wirus endogenny		
H	Kuropatwa węgierska	Wirus endogenny		
I	Przepiórka kalifornijska	Wirus endogenny		

Ryc. 2. Zależność między mianem przeciwciał matczynych a średnią masą ciała w 22 dniu po podaniu per os jednodniowym brojlerom zjadliwego reowirusa

Grupa mian ELISA

C. Praktyczne zastosowanie monitoringu serologicznego w zakażeniach reowirusowych

Określenie poziomu przeciwciał matczynych

PISKLĘTA JEDNODNIOWE

Przeglądowe badanie pierwszego kału (mekonium) lub wymazu z kloaki w kierunku wykrycia obecności wirusów białaczki - test grupowo swoisty wykrywający białko p27

WYNIK DODATNI ewentualne wykonanie testu w kierunku potwierdzenia obecności przeciwciał ALV-typ A,B (D)

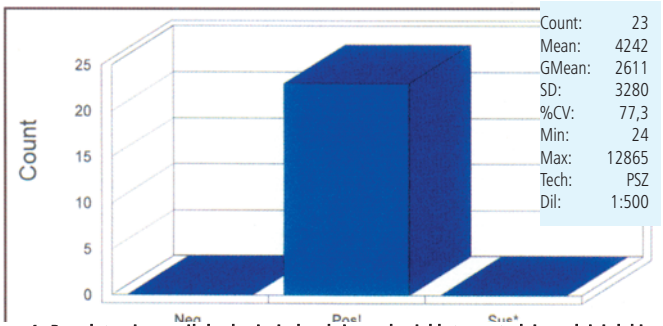
WYNIK DODATNI - ewentualne wykonanie testu w kierunku potwierdzenia obecności przeciwciał ALV-typ J

WYNIK DODATNI - dalsze postępowanie ze stadem w zależności od stopnia zakażenia

Count:	23
Mean:	9545
GMean:	8581
SD:	4325
%CV:	45,3
Min:	3054
Max:	18669
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

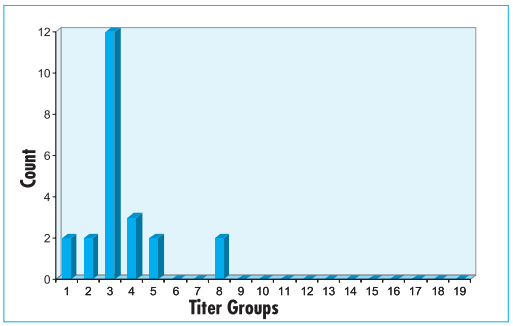
PTAKI W TRAKCIE ODCHOWU I PRODUKCJI

Ryc. 3. Przedstawia typowy wynik badania jednodniowych piskląt pochodzących po rodzicach szczepionych przeciwko zakażeniom reowirusowym w 6 i 12 tygodniu szczepionką żywą i w 18 tygodniu szczepionką inaktywowaną. Do ustalenia terminu szczepienia w stadzie rodzicielskim stosowano monitoring serologiczny.



Count:	23
Mean:	4242
GMean:	2611
SD:	3280
%CV:	77,3
Min:	24
Max:	12865
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

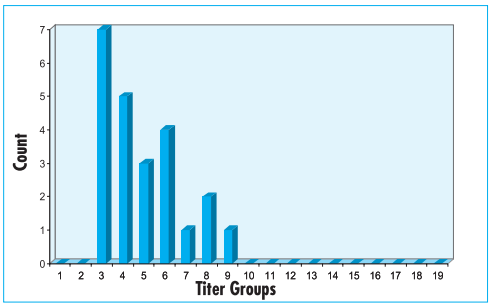
Ryc. 4. Przedstawia wynik badania jednodniowych piskląt po stadzie rodzicielskim szczepionym tylko szczepionką żywą w 12 tygodniu. Widoczny jest wysoki współczynnik zmienności (% CV). Znaczny odsetek ptaków w takim stadzie nie będzie zabezpieczony przed skutkami zakażenia reowirusami w pierwszych dniach odchowu. Odchów takich piskląt w obiektach, w których występowały wcześniej zagrożenia reowirusami może być utrudniony.



Count:	23
Mean:	2021
GMean:	1542
SD:	1657
%CV:	82,0
Min:	326
Max:	6876
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

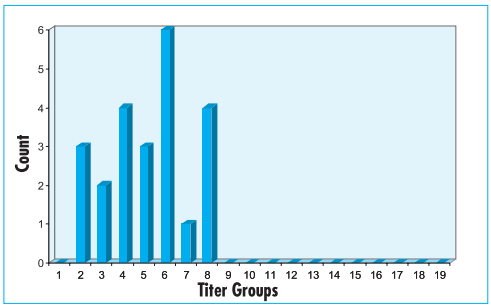
Ryc. 5. To wynik badania jednodniowych piskląt po stadzie rodzicielskim brojlerów nie szczepionych przeciwko zakażeniom reowirusowym. Stwierdzone przeciwciała powstały w wyniku zakażenia naturalnego. Badane pisklęta pochodziły po rodzicach z młodego stada (I nakład). Jest wysoce prawdopodobne, że w tym stadzie brojlerów doszło do zakażenia drogą pionową, bowiem następne badanie wykonane w 3 tyg. wykazało znaczącą serokonwersję. Wynik ekonomiczny odchowu tego stada brojlerów był niezadowalający.

Ocena odpowiedzi serologicznej po szczepieniu



Count:	23
Mean:	2021
GMean:	1542
SD:	1657
%CV:	82,0
Min:	326
Max:	6876
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

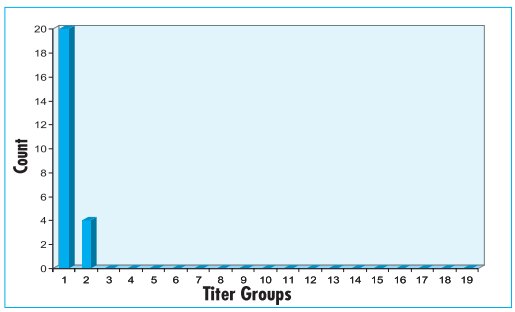
Ryc. 6. Przykład wyniku po zaszczepieniu ptaków w 7 dniu życia żywą szczepionką przeciwko zakażeniom reowirusowym. Poziom przeciwciał określono w 39 dniu życia. Decyzje o szczepieniu w tym stadzie rodzicielskim brojlerów podjęto ze względu na niskie (800) miano i wysoki (92,6%) współczynnik zmienności. Wynik badania potwierdza, że termin szczepienia został wybrany prawidłowo.



Count:	23
Mean:	3719
GMean:	3074
SD:	1994
%CV:	53,6
Min:	748
Max:	7623
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

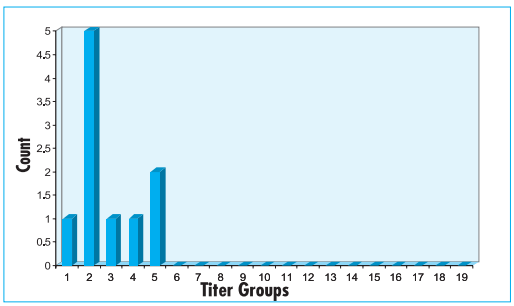
Ryc.7. Przykład wyniku po szczepieniu ptaków w 6 i 12 tygodniu żywą szczepionką przeciwko zakażeniom reowirusowym. Krew do badania pobrano w 6 tygodniu po drugim szczepieniu. Typowy wynik jaki uzyskuje się po szczepieniu. Wydaje się, że po zastosowaniu szczepionki inaktywowanej, nawet najniższe miana wzrosną powyżej 3000 a współ-czynnik zmienności spadnie poniżej 45%.

Rozpoznawanie chorób. Zastosowanie testu ELISA do diagnostyki zakażeń reowirusowych wymaga badania par surowic.



Count:	23
Mean:	257
GMean:	87
SD:	232
%CV:	90,3
Min:	1
Max:	837
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

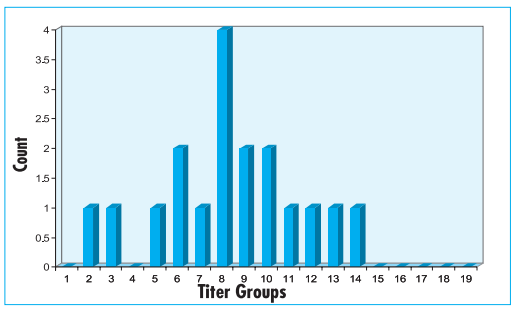
Ryc. 8. Stado brojlerów nie zakażone reowirusami, badane w 3 tygodniu życia. Jeżeli pisklęta nie zetknęły się w pierwszym okresie odcho-wu z reowirusami (zakażenie pionowe bądź horyzontalne) to przeciwciała matczyne zanikają między 15 a 21 dniem ży-cia. W typowych przypadkach w stadzie takim, badanym w 6 tyg. nie stwierdza się serokonwersji, bądź jest ona niewielka (Ryc.9).



Count:	10
Mean:	1382
GMean:	841
SD:	1274
%CV:	92,2
Min:	103
Max:	3918
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

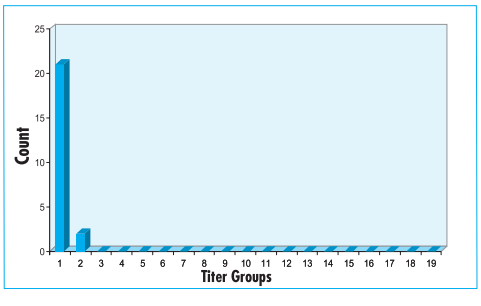
Ryc. 9. Stado brojlerów w niewielkim stopniu zakażone reowirusami. Badanie wykonano w 6 tygodniu życia ptaków.

Ocena stanu zdrowotnego stad



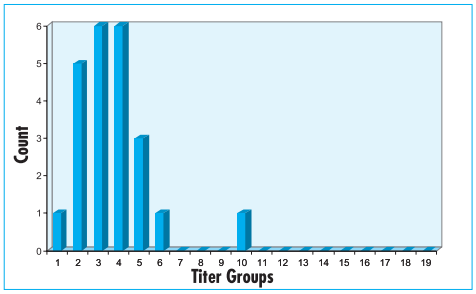
Count:	18
Mean:	8374
GMean:	6736
SD:	4668
%CV:	55,7
Min:	803
Max:	18206
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

Ryc. 10. Stado brojlerów, w którym stwierdzono kliniczne objawy zespołu złego wchłaniania, badanie w 6 tyg. życia. Pełna diagnostyka zakażeń reowirusowych wymaga badania stada brojlerów w 1, 21 dniu i po zakończeniu odchowu. W przedstawionym przypadku można wiązać obecność przeciwciał przeciwko reowirusom z problemami jakie wystąpiły w czasie odchowu. Badanie w 28 dniu życia wykazało, że miano przeciwciał wynosiło 1500 a CV 85%. Pierwsze objawy kliniczne zespołu złego wchłaniania pojawiły się w drugim tygodniu odchowu. Generalnie można przyjąć, że cechą wczesnego zakażenia są duże zróżnicowania mian – wysoki współczynnik zmienności (Ryc. 10, 12).



Count:	23
Mean:	184
GMean:	69
SD:	150
%CV:	81,4
Min:	1
Max:	481
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

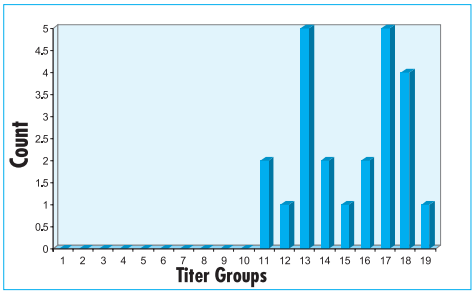
Ryc. 11. Stado rodzicielskie brojlerów nie zakażone reowirusami, badanie w 5 tyg. życia. Mimo, że w tym stadzie nie stwierdzono żadnych objawów klinicznych infekcji reowirusami, zalecono jednak jak najszybsze szczepienie, aby zapobiec rozprzestrzenianiu się wirusa terenowego w stadzie.



Count:	23
Mean:	2330
GMean:	1783
SD:	1960
%CV:	84,2
Min:	362
Max:	10121
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

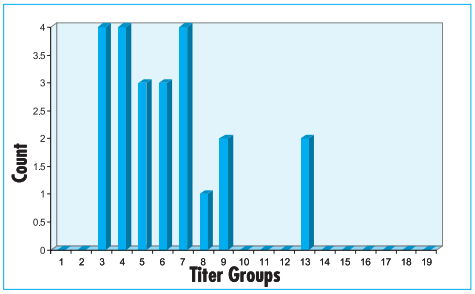
Ryc. 12. Stado rodzicielskie brojlerów zakażone reowirusami badanie w 5 tyg. życia. Obserwacje serologiczne wskazują, że do zakażenia reowirusami w stadach rodzicielskich brojlerów dochodzi najczęściej w 3 – 5 tyg. życia. Sytuacja przedstawiona na tej rycinie może wskazywać na występowanie za-każenia – stąd konieczna jest jego szybka immunizacja (szczepionka żywa).

Porównywanie stanu zdrowotnego stad.



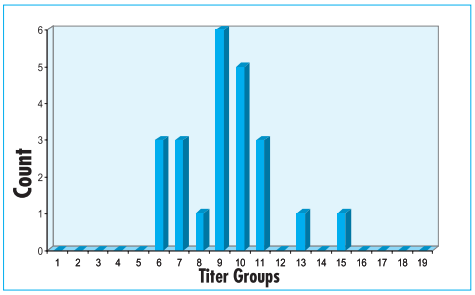
Count:	23
Mean:	22589
GMean:	21670
SD:	6352
%CV:	28,1
Min:	12756
Max:	35866
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

Ryc. 13. Stado bardzo dobrze uodpornione. Badanie wykonano w wieku 26 tyg. Stosowanie monitoringu serologicznego umożliwia uzyskanie bardzo dobrych rezultatów po szczepieniu. Prezentowany doskonały wynik potwierdza bardzo dobry przebieg od-chowu; jest ważne, że w stadzie tym nie stwierdzono naturalnego zakażenia reowirusami.



Count:	23
Mean:	5491
GMean:	4284
SD:	4310
%CV:	78,5
Min:	1230
Max:	17738
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

Ryc. 14. Stado przepierzone. Badane w 72 tyg. Stado to było szczepione w czasie odchowu żywą szczepionką w 10 tyg. i inaktywowaną w 18 tyg. Podane na tej i na ryc.15 przykłady dotyczą stad przepierzonych różniących się programami profilaktyki zakażeń reowirusowych w okresie odchowu. Generalnie można stwierdzić, że problem stad przepierzonych może być racjonalnie rozwiązany tylko przy pomocy monitoringu serologicznego.



Count:	23
Mean:	9617
GMean:	8816
SD:	4039
%CV:	42,0
Min:	4256
Max:	21575
Tech:	PSZ
Dil:	1:500

Ryc. 15. Stado przepierzone. Badane w wieku 77 tyg. Stado to było szczepione w czasie odchowu żywą szczepionką w 6 tyg. i 12 tyg. oraz szczepionką inaktywowaną w 18 tyg.

Notatki

TESTY FIRMY IDEXX

- Avian Encephalomyelitis Antibody Test
- Avian Leukosis Virus Antigen Test
- Avian Leukosis Virus Antibody Test
- Avian Reovirus Antibody Test
- Chicken Anemia Antibody Test
- Infectious Bronchitis Virus Antibody Test
- Infectious Bursal Disease Virus Antibody Test
- Newcastle Disease Virus Antibody Test (Kury; Indyki)
- Pasteurella multocida Antibody Test (Kury; Indyki)
- Reticuloendoteliosis Virus Antibody Test
- Mycoplasma gallisepticum Antibody Test
- Mycoplasma gallisepticum / synoviae Antibody Test
- Salmonella enteritidis DNA Probe Test
- Mycoplasma gallisepticum DNA Probe Test
- Mycoplasma synoviae DNA Probe Test

MINI-SŁOWNCZEK NAJWAŻNIEJSZYCH TERMINÓW

Surowica – płynna część krwi po oddzieleniu od niej elementów morfotycznych, krwinek i włóknika

Testy serologiczne – Testy wykrywające przeciwciała

Przeciwciała – specyficzne białka, które powstały po kontakcie danego osobnika z konkretnym zarazkiem. Układ odpornościowy jest odpowiedzialny za powstanie przeciwciał w organizmie Test ELISA Test immunoenzymatyczny test z wyboru do rutynowego monitoringu serologicznego

Miano surowicy – jest to ilość przeciwciał zawarta w określonej objętości surowicy

Miano ochronne surowicy – Miano przeciwciał przy, którym w standartowych warunkach nie dochodzi do rozwoju choroby po kontakcie z czynnikiem zakaźnym Miano przeciwciał jest dodatnio skorelowane z odpornością przy: IBD, IB, ND, AE, REO.

Serokonwersja – Wzrost mian przeciwciał w okresie między jednym a drugim badaniem

Przedsiębiorstwo Produkcyjno-Handlowe
ESKULAP Spółka Jawna
44-105 Gliwice, ul. Elsnera 6
tel.: 0-prefix-32 270 02 07, 270 06 28
tel./fax: 0-prefix-32 270 02 08
infolinia: 0 801 120 104
e-mail: eskulap@eskulap.gliwice.pl