

Serological surveillance of European bison (*Bison bonasus*) from Białowieża Primeval Forest as a control measure of bovine viral respiratory infections

Krzysiak M.K.^{1,2}, Kęsik-Maliszewska J.³, Larska M.³, Białowieża National Park¹, Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin², Department of Virology, National Veterinary Research Institute in Puławy³

Previous post-mortem study revealed that respiratory disorders are the most frequent, therefore may play a major role among the health treats to European bison. The exposure to bovine parainfluenza type 3 (PIV-3), bovine adenovirus type 3 (BAV-3), bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and bovine herpesvirus type 1 (BoHV-1) in the world largest population of European bison in Białowieża Primeval Forest was estimated. Hundred and sixteen sera collected from healthy, selectively culled or fallen animals in the age between few days and 27 years were screened for the presence of specific antibodies using serological tests. The seroprevalences of PIV-3, BAV-3 and BRSV were 61.2%, 70.7% and 15.5%, respectively, while only one European bison (0.9%) had BoHV-1 antibodies. PIV-3 and BAV-3 seroprevalences were associated with population type (free-living/captive), sanitary status (healthy/selectively culled/fallen) and age. Significantly higher proportions of seropositive against both viruses were found in free-living, eliminated and older than 4 years animals. Using multivariable generalized linear mixed model (GLMM), the risk factors which included sanitary status and population type for PIV-3 seropositivity and population type for BAV-3 exposure were established. Further studies are needed to characterise virologically the prevalent pathogens and relate them to the pathological changes observed in European bison.

Keywords: European bison, seroprevalence, bovine parainfluenza type 3, bovine adenovirus type 3, bovine respiratory syncytial virus, bovine herpesvirus type 1.

Żubry europejskie (*Bison bonasus*) są współcześnie żyjącymi, największymi ssakami Europy, zaliczonymi do podrzędu Ruminantia i rodziny Bovidae. Byki osiągnają masę ciała od 700 do 800 kg (maksymalnie 920 kg) i średnią wysokość w kłębie 172 cm. Krowy ważą od 400 do 500 kg (maksymalnie 640 kg), a wysokość w kłębie wynosi średnio 152 cm. Są barwy brązowej z odcieniami. Wyróżniającymi cechami budowy anatomicznej żubra jest to, że mają 14 par żeber, poprzecznie owalną żrenicę, a u samców dość często występuje macica męska.

Do rodzaju *Bison* zaliczano dwa podgatunki: żubra nizinnego (białowieckiego) *Bison bonasus bonasus* oraz żubra kaukaskiego (górnego) *Bison bonasus caucasicus*. Żubry kaukaskie nie dotrwały do

Monitoring serologiczny żubrów (*Bison bonasus*) z Puszczy Białowieskiej jako element kontroli zakażeń wirusami oddechowymi bydła

Michał K. Krzysiak^{1,2}, Julia Kęsik-Maliszewska³, Magdalena Larska³

z Białowieskiego Parku Narodowego¹, Katedry Epizootologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie² i Zakładu Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach³

naszych czasów. W 1927 r. ekspedycja naukowa stwierdziła, że ostatnie żubry tego podgatunku już wyginęły na Kaukazie. Ocalał tylko jeden osobnik wywieziony do Niemiec w 1908 r. Przeżył w niewoli 18 lat i z samicami podgatunku żubra nizinnego dał liczne potomstwo, będące mieszańcami żubra kaukaskiego i białowieskiego. Mimo że domieszka krwi żubra górskiego u współcześnie hodowanych żubrów jest nieznaczna i nie różni się one wyglądem od żubrów nizinnych zamieszkujących Puszczę Białowieską, utrzymywane są oddzielnie, w Polsce na terenie Bieszczad. Obecnie w Polsce i na świecie żyją żubry zarówno linii nizinnej, jak i nizinno-kaukaskiej (1).

Od 1915 r. w wyniku I wojny światowej, po wkroczeniu do Puszczy Białowieskiej wojsk niemieckich, postępowała depopulacja wolno żyjących żubrów nizinnych w Puszczy Białowieskiej, a w 1919 r. został zabity ostatni osobnik. Restytucja gatunku rozpoczęła się w 1929 r., gdy na całym świecie żyły jeszcze 54 żubry. Pomimo tego do hodowli restytucyjnej przeznaczono zaledwie 12 osobników stanowiących grupę założycielską obydwu linii, zaś linii nizinnej początek dało tylko 7 zwierząt. Pierwsze żubry nizinne zostały wypuszczone na wolność do Puszczy Białowieskiej dopiero w 1952 r. (2). Pod koniec 2015 r. światowa populacja żubrów wynosiła ponad 6000 osobników, zaś w Polsce było ich 1566, z czego 578 z hodowli wolnej w Puszczy Białowieskiej i 28 z hodowli zamkniętej Białowieskiego Parku Narodowego (3). Pomimo licznych badań dotyczących ekologii i genetyki żubrów, zagrożenia chorobami zakaźnymi wciąż w dużej mierze pozostają nierozpoznane.

Na początku XX w. Wróblewski (4) obserwował podczas sekcji padłych i odstrzelonych żubrów, że do głównych przyczyn złego stanu zdrowia należały różnego rodzaju zmiany zapalne układu oddechowego. Prawie wiek później u żubrów eliminowanych i padłych w badaniu *post mortem* również najczęściej obserwowanymi zmianami były zapalenia płuc (45%; **ryc. 1, 2**)

i rozedma płuc (33%; 5), toteż postanowiono zwrócić szczególną uwagę na czynniki zakaźne, które są przyczyną zakażeń układu oddechowego u bydła domowego. W układzie oddechowym u żubrów makroskopowo najczęściej można stwierdzić inwazję nicieni płucnych z rodzaju *Dictyocaulus* (6). Kita i Anusz (7) w swoim opracowaniu dotyczącym historii chorób zakaźnych żubrów zwracają uwagę na czynniki bakteryjne, takie jak *Mycoplasma* spp. i *Pasteurella multocida*, które mogą stanowić przyczynę bakteryjnych zapaleń płuc. Na przełomie XX i XXI wieku w polskich populacjach żubrów pojawiły się ogniska gruźlicy, która w obrazie sekcyjnym manifestowała się między innymi zmianami zapalnymi w obrębie układu oddechowego (8). Dlatego w naszych badaniach skoncentrowaliśmy się na czynnikach wirusowych jako potencjalnych źródłach zmian w tym układzie. Patogeny, takie jak herpeswirus bydlęcy typu 1 (BoHV-1), który wywołuje częste u bydła zakaźne zapalenie nosa i tchawicy (IBR) i pęcherzykowe zapalenie błony śluzowej sromu i pochwy (IPV; 9), a także wirus parainfluenzy typu 3 (PIV-3), adenowirus bydlęcy typu 3 (BAV-3) i syncytialny wirus oddechowy (BRSV), które wspólnie są określane jako czynniki etiologiczne zespołu oddechowego bydła (bovine respiratory disease – BRD) odgrywają największą rolę przy zakażeniach oddechowych u bydła na świecie (10). U zwierząt wolno żyjących często występują wirusy spokrewnione z występującymi u zwierząt domowych. Tak jest w przypadku np. alfa herpeswirusów, do których należy BoHV-1. Wirusy z nim pokrewne, tj. herpeswirusy typu 1 jeleniowatych (CvHV-1) i typu 2 reniferów (CvHV-2), powodują podobne choroby u przeżuwaczy wolno żyjących (11).

Celem pracy było określenie ekspozycji żubrów z rejonu Puszczy Białowieskiej, czyli największej na świecie wolno żyjącej populacji tego gatunku i utrzymywanej w Białowieskim Parku Narodowym rezerwy genetycznej żubrów na patogeny, które mogą mieć wpływ na stan zdrowotny i rozwój tego zagrożonego gatunku.

Materiały i metody

Do badań wykorzystano 116 próbek surowicy krwi pochodzących od żubrów obu płci w wieku od kilku dni do 27 lat z Puszczy Białowieskiej i rezerwatów hodowlanych Białowieskiego Parku Narodowego pobranych w latach 2011–2015. Większość próbek pochodziła od żubrów eliminowanych ze względu na zły stan zdrowia (65/116; 56%) oraz klinicznie zdrowych, immobilizowanych do celów monitorowania przemieszczania się (zakładanie obroży telemetrycznych), transportowych lub poddawanych badaniom diagnostycznym (39/116; 33,6%). Pozostałe próbki były pobrane od zwierząt padłych, w tym w dwóch przypadkach były to wypadki komunikacyjne. Część zwierząt (97/116; 59%) była to wolno żyjące żubry z Puszczy Białowieskiej, podczas gdy reszta (67/116; 41%) pochodziła z rezerwatów hodowlanych Białowieskiego Parku Narodowego.

W celu wykrycia swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi parainfluenzy typu 3, adenowirusowi bydlęcemu typu 3 oraz wirusowi syncytialnemu bydła przeprowadzono Trivalent Antibody Test ELISA (IDEXX) zgodnie z instrukcją producenta. Do badania serologicznego w kierunku BoHV-1 użyto odpowiednio zestawu IBR gB blocking Ab Test tej samej firmy.

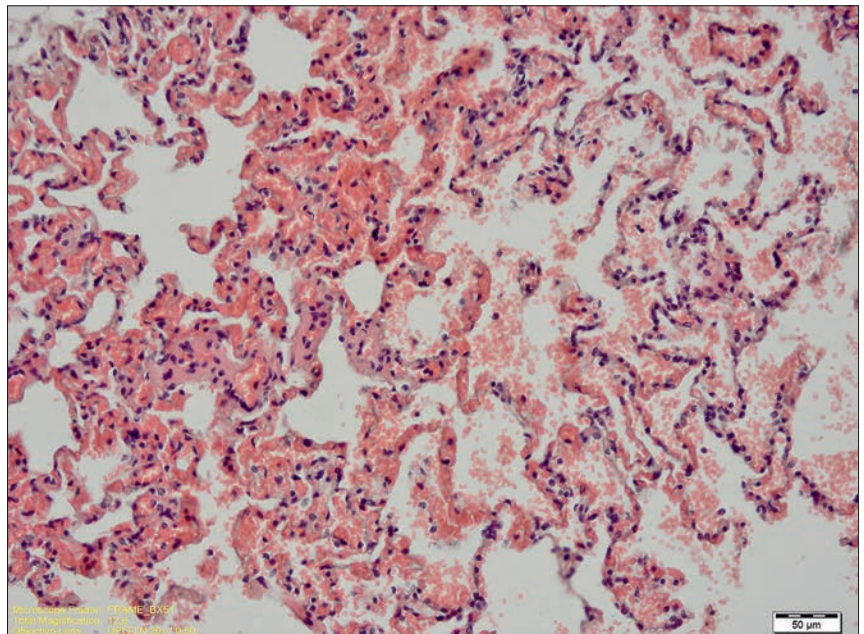
Do analizy zależności odsetka żubrów posiadających przeciwciała przeciw poszczególnym patogenom, a wybranym parametrom tj. typ populacji (wolna / zamknięta); status sanitarny [zdrowy (immobilizowany) / eliminowany / padły / inny (padły w wypadku komunikacyjnym)]; grupa wiekowa: cieleta do 1. roku życia / 2–3-letnie, tzw. młodzież, od 4. roku życia (żubry dorosłe)]; płeć (żeńską / męską) oraz rok pobrania próbki użyto testu χ^2 . Do oszacowania czynników ryzyka użyto uogólnionych modeli liniowych (GLMM). Analizę statystyczną przeprowadzono w programie STATA v.13.0 (Stata-Corp LP) biorąc pod uwagę wartość prawdopodobieństwa $P \leq 0,05$ jako istotną.

Wyniki i omówienie

Obecność przeciwciał przeciwko PIV-3 stwierdzono u 71 z 116 (61,2%) badanych żubrów. Seroprewalencja BAV-3 była jeszcze wyższa i wynosiła 70,7% (82/116), podczas gdy przeciwciała przeciwko BRSV posiadało jedynie 15,5% (18/116) zwierząt. Tylko jeden osobnik, wolno żyjący byk, immobilizowany na terenie gospodarstwa rolnego w 2011 r., a następnie padły (12), posiadał przeciwciała przeciwko BoHV-1, co z jednej strony sygnalizuje, że wirus ten nie stanowi obecnie problemu dla żubrów, jednak może dojść do zakażenia poprzez transmisję od bydła domowego. Niska



Ryc. 1. Ogniska zapalenia śródmiąższowego płuc i ropne zapalenie oskrzeli u 18-letniej samicy żubra wyeliminowanej ze względu na zły stan zdrowia (Archiwum Białowieskiego Parku Narodowego)



Ryc. 2. Obraz mikroskopowy zmian z ryc. 1. Znaczne rozszerzenie naczyń włosowatych w ścianach pęcherzyków płucnych, krew w świetle pęcherzyków oraz ogniska zapalenia śródmiąższowego płuc. Barwienie hematoksylina – eozyna, pow. 200 \times (fot. Elżbieta Czykier z Zakładu Histologii i Embriologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku)

seroprewalencja dla BoHV-1 pokazała równocześnie, że większość żubrów w Puszczy Białowieskiej jest w pełni wrażliwych na zakażenie tym patogenem, co może mieć poważne konsekwencje dla całej populacji. Obecnie obserwowane tylko przypadkowe zakażenia BoHV-1 u żubrów są związane prawdopodobnie również z rzadkim występowaniem tego wirusa u bydła domowego w okolicach Puszczy Białowieskiej. Mimo że takie badania na tym terenie nie były prowadzone, Salwa i wsp. (13) w badaniach u zwierząt gospodarskich i wolno żyjących z terenu bytowania żubrów bieszczadzskich również nie obserwowali zakażeń BoHV-1. Badania bydła mlecznego

z południowej Polski wykazały rozprzestrzenienie się wirusa aż w połowie stad dotkniętych chorobami układu oddechowego, jednak w stadach określanych jako mniejsze (<100 sztuk bydła) patogen był obecny jedynie w 11% hodowli, w których niespełna 8% zwierząt miało przeciwciała przeciwko BoHV-1 (14). Ponieważ w rejonie Puszczy Białowieskiej nieliczne tutaj stada bydła są małe, jest bardzo prawdopodobne, że brak transmisji międzygatunkowej i brak szerzenia się BoHV-1 jest związany z faktem, że wirus nie występuje tu endemicznie. Niewykluczone jest jednak, że w najbliższej przyszłości wraz z rosnącą liczbą i zagęszczeniem populacji żubrów (3) ryzyko transmisji

BoHV-1 poprzez coraz częstszy kontakt żubrów z bydłem domowym na pastwiskach będzie rosło. Podejrzewa się, że żubry, podobnie jak należące do tego samego rodzaju bizona amerykańskie (15), są w pełni wrażliwe na zakażenia BoHV-1. W ostatnich badaniach prowadzonych na żubrach nie znaleziono przeciwciał przeciwko temu wirusowi (16, 17), jednak były one stwierdzone u ok. 13% zwierząt we wcześniejszych badaniach, prowadzonych u tego gatunku (18). Ze względu na ostatecznie niepotwierdzone podejrzenia, że *balanoposthitis*, czyli martwicze zapalenie żołądki prącia i napletka u byków żubra związane jest z zakażeniem herpeswirusowym, Borchers i wsp. (19) zbadali wirusologicznie tkanki ponad 260 żubrów obu płci pobrane od zwierząt eliminowanych w Puszczy Białowieskiej w latach 1990–2000. BoHV-1 został wyizolowany jedynie ze śledziony jednego cielęcia żubra. Pomimo niskiej seroprevalencji i braku dowodów na endemiczne

występowanie zakażeń alfa herpeswirusowych w Puszczy Białowieskiej, należy jednak pamiętać, że wraz z gwałtownym wzrostem populacji tych zwierząt w ostatnich latach, ryzyko zakażeń m.in. BoHV-1 rośnie i ich stan epizootyczny powinien być wciąż monitorowany.

Oprócz bardzo wysokiej seroprevalencji dla PIV-3 i BAV-3, zaobserwowano dodatkowo, że znacznie częściej przeciwciała przeciwko tym patogenom znajdowano u żubrów wolno żyjących, niż z rezerwatu (tab. 1). Wysoka seroprevalencja BAV-3 i PIV-3 może sugerować zaangażowanie tych czynników chorobotwórczych do często obserwowanych u żubrów zaburzeń oddechowych. Co więcej, jest to pierwsze badanie, które wykazało ekspozycję żubrów z rejonu Puszczy Białowieskiej na BAV-3. Wirusy oddechowe są szeroko rozprzestrzenione w populacji bydła w Polsce (20, 21) i poprzez swoje działania immunosupresyjne mogą wpływać na

wtórne zakażenia płuc patogenami bakteryjnymi (10), takimi jak chociażby *Pasteurella multocida* wyizolowana niedawno z płuc białowieskich żubrów (22). Nieliczne doniesienia sugerują wysoką, bo ponad 70% seroprevalencję PIV-3 w hodowlach bydła w kraju (23). Przeciwciała przeciwko PIV-3 były wykrywane w większości stad bydła mlecznego w Polsce (20), podobnie przedstawiała się seroprevalencja dla tego wirusa u bizonów amerykańskich (15, 24), co świadczy o tym, że zarówno bydło, jak i zwierzęta z rodzaju *Bison* są w pełni wrażliwe na zakażenie tym wirusem. Pomimo, że w Polsce nie oszacowano prewalencji dla BAV-3, została ona określona u bydła w Finlandii, które wykazywało objawy zespołu oddechowego, na poziomie sięgającym do 100% badanych zwierząt (25), a także u kopytnych zwierząt z ogrodów zoologicznych w Turcji (26). Różnice w występowaniu zakażeń oboma wirusami u żubrów ze stad wolnościowych i rezerwatów

Tabela 1. Wyniki badań serologicznych przeciwko PIV-3, BAV-3 i BRSV wśród żubrów z Puszczy Białowieskiej w zależności od rodzaju populacji, statusu sanitarnego, grupy wiekowej, płci i roku, w którym pobrano próbki

Charakterystyka żubrów	Seroprevalencja					
	PIV-3		BAV-3		BRSV	
	n/N ¹	% ²	n/N	%	n/N	%
Populacja						
- wolna	59/75	78,7	63/75	84,0	10/75	13,3
- zamknięta	12/41	29,3	19/41	46,3	8/41	19,5
Status sanitarny						
- zdrowy (immobilizowany)	12/39	30,8	21/39	53,8	4/39	10,2
- eliminowany	51/65	78,5	54/65	83,1	13/65	20,0
- padły	6/10	60,0	5/10	50,0	1/10	10,0
- inny ³	2/2	100,0	2/2	100,0	0/2	0,0
Grupa wiekowa ⁴						
- ≤ 1 roku	4/26	15,4	14/26	53,8	2/26	7,7
- 2-3 lata	10/18	55,6	10/18	55,6	1/18	5,5
- ≥ 4 roku życia	52/66	78,8	53/66	80,3	12/66	18,2
Płeć ⁵						
- żeńska	33/58	56,9	40/58	69,0	11/58	19,0
- męska	36/56	64,2	40/56	71,4	5/56	8,9
Rok						
2011	17/20	85,0	19/20	95,0	5/20	25,0
2012	8/14	57,1	10/14	71,4	1/14	7,1
2013	27/35	77,1	27/35	77,1	7/35	20,0
2014	12/32	37,5	17/32	53,0	5/32	15,6
2015	7/15	44,7	9/15	60,0	0/15	0,0

¹ liczba wyników dodatnich / liczba próbek badanych; ² odsetek żubrów serologicznie dodatnich; ³ wypadek komunikacyjny; brak danych dla szesciu⁴ i dwóch⁵ próbek

Tabela 2. Istotność zależności między wynikiem serologicznie dodatnim PIV-3, BAV-3 i BRSV a rodzajem populacji, statusem sanitarnym, grupą wiekową i płcią żubrów z Puszczy Białowieskiej oraz rokiem, w którym pobrano próbki wyrażona współczynnikiem χ^2 i P

	Populacja	Status sanitarny	Wiek	Płeć	Rok
PIV-3	27,2 P<0,001*	24,6 P<0,001*	31,4 P<0,001*	0,7 P=0,4	17,5 P=0,002*
BAV-3	18,1 P<0,001*	13,0 P=0,005*	8,3 P=0,02*	0,08 P=0,8	12,2 P=0,02*
BRSV	0,8 P=0,4	2,4 P=0,5	2,9 P=0,2	2,1 P=0,1	5,4 P=0,2

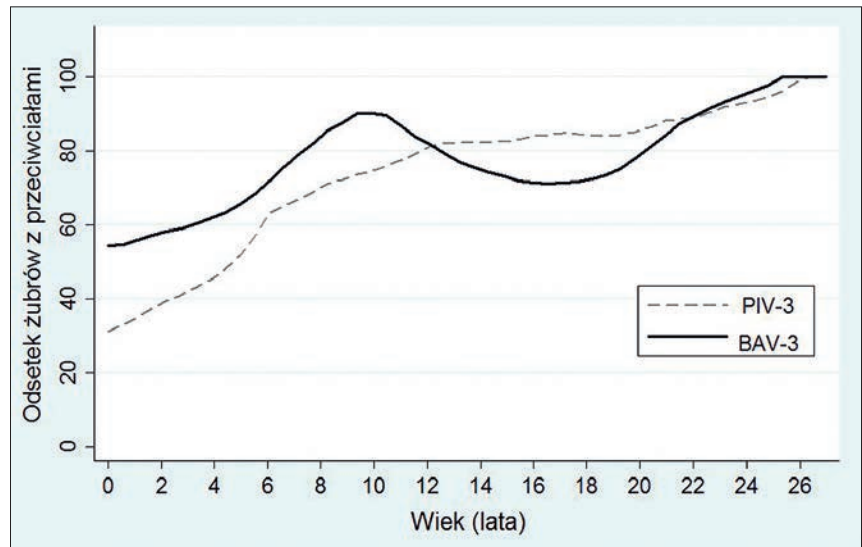
* statystycznie istotne dla P≤0,005

sugerują również wyższą skuteczność nadzoru weterynaryjnego u tych ostatnich polegająca na profilaktyce, ale również ograniczeniu możliwości kontaktów z innymi przeżuwaczami w obrębie tego samego gatunku, jak i międzygatunkowych.

Status sanitarny zwierząt okazał się również istotny, a najwyższy odsetek dodatnich seroreagentów stwierdzono w grupie zwierząt eliminowanych w stosunku do żubrów potencjalnie zdrowych (immobilizowanych w celu zakładania obroży, transportu lub diagnostycznych; **tab. 1 i 2**). Dane te sugerują, że ich wybór do eliminacji nie był przypadkowy, a trafiony i przemyślany, poprzedzony licznymi obserwacjami i potwierdzony wynikami prezentowanych tu badań. Jest to ważne, gdyż odpowiednia selekcja chorych żubrów może istotnie przyczynić się do poprawy statusu epizootycznego tych zwierząt.

Przeciwciała przeciwko PIV-3 i BAV-3 stwierdzano częściej również u żubrów starszych w stosunku do młodszych (**tab. 1**), co dobrze prezentuje również **ryc. 3**. Dość wysoki odsetek cieląt żubrów (w wieku poniżej 1. roku) serologicznie dodatnich dla PIV-3 (25%) i BAV-3 (62,5%) wskazuje prawdopodobnie na obecność przeciwciał matczynych pobranych z siarą, nie zaś na ekspozycję na patogeny. Potwierdzają to również niższe odsetki dla tych patogenów (odpowiednio 11,1 i 50%) u zwierząt w wieku jednego roku. U żubrów, podobnie jak u bydła czas trwania odporności biernej można przyjąć na okres do sześciu miesięcy po urodzeniu. Wzrost seroprewalencji wraz z wiekiem zwierząt jest najczęściej obserwowany w badaniach epizootycznych i epidemiologicznych, gdyż związany jest z rosnącą możliwością ich kontaktów z różnymi czynnikami, w tym zakaźnymi. Obserwacja ta jest o tyle cenna, że pośrednio potwierdza reprezentatywność próby, czyli że liczba badanych żubrów pozwala na przeprowadzenie analizy statystycznej. W przypadku obu patogenów zaobserwowano również istotne różnice w rocznej seroprewalencji (**tab. 1 i 2**), jednak było to spowodowane raczej różnicami w liczbie próbek pobranych w danym roku w stosunku do statusu sanitarnego i wieku zwierząt, czy też ich pochodzenia. W przypadku stosowania tzw. monitoringu biernego, gdzie nie ma możliwości losowego pobierania próbek, jak to się dzieje przy badaniach gatunków zagrożonych, należy pamiętać o krytycznym podejściu do wyników badań statystycznych, ponieważ często są one obciążone błędem doboru próby. Jednocześnie ważne jest również wykorzystanie każdej możliwości pobierania próbek od tego gatunku, aby zgromadzić jak najwięcej informacji.

Zbadaliśmy również relacje między seroprewalencją dla PIV-3, BAV-3 i BRSV i okazało się, że obecność przeciwciał



Ryc. 3. Średni odsetek żubrów posiadających przeciwciała przeciwko wirusowi parainfluenzy typu 3 (PIV-3) i adenowirusowi bydła typu 3 (BAV-3) w zależności od ich wieku

przeciwko dwóm pierwszym wirusom jest ze sobą istotnie związana ($P < 0,001$). U 60 żubrów stwierdzono jednocześnie obecność przeciwciał przeciwko obu wirusom, co stanowiło 84,5% zwierząt serododatnich przeciw PIV-3 i 73,2% przeciw BAV-3. Co ciekawsze, zaobserwowaliśmy również zależności pomiędzy obecnością przeciwciał przeciwko jednemu z patogenów i obecnością zmian patologicznych w płucach opisanych w protokołach z eliminacji żubrów (5). W badaniach sekcyjnych obecność zmian, takich jak rozedma i zapalenie płuc obserwowano u odpowiednio 47,5 i 61,5% eliminowanych żubrów (5). Obecność przeciwciał przeciwko BAV-3 była istotnie ($P = 0,007$) częściej obserwowana u żubrów eliminowanych, wykazujących zmiany w obrębie płuc (90%), niż bez takich zmian (60%). Aż u 84% żubrów, które posiadały przeciwciała zarówno przeciwko PIV-3, jak i BAV-3 stwierdzono obecność zmian patologicznych płuc ($P = 0,005$). Oczywiście wyciąganie daleko idących wniosków z tych danych byłoby nadużyciem, gdyż nawet identyfikacja samych patogenów w badanych tkankach nie zawsze może być dowodem, że są one przyczyną

obserwowanych zmian. Obecność przeciwciał nie mówi kiedy doszło do zakażenia, a po ekspozycji przeciwciała mogą utrzymywać się prawdopodobnie kilka miesięcy (brak danych literaturowych). Wysoki odsetek żubrów serododatnich dla PIV-3 i BAV-3 oznacza jednak częste występowanie tych zakażeń, co w konsekwencji może prowadzić do zmian obserwowanych w ich układzie oddechowym. Wydają się konieczne dalsze badania wirusologiczne w tym kierunku.

Do określenia czynników ryzyka, czyli cech indywidualnych oraz cech środowiska bytowania zwiększających lub zmniejszających ryzyko ekspozycji na PIV-3 i BAV-3, które wyrażały się obecnością przeciwciał użyto modelu wieloczynnikowego GLMM, który opracowano wykluczając po kolei nieistotne parametry. W ten sposób ustalono, że szansa wykrycia przeciwciał przeciwko PIV-3 u zwierząt eliminowanych była aż 4,5 razy (OR) wyższa niż u zwierząt zdrowych (**tab. 3**). Dodatkowo ryzyko ekspozycji na tego wirusa malało u żubrów w rezerwacie w stosunku do żyjących na wolności. Ryzyko zakażenia wirusem rosło aż 18 i 21 razy odpowiednio w grupie

Tabela 3. Czynniki ryzyka dla obecności przeciwciał przeciwko PIV-3 u żubrów w Puszczy Białowieskiej (n=116)

Charakterystyka	Kategoria	Iloraz szans (OR)	Błąd standardowy (SE)	Statystyka z	P*
Populacja	wolna	wartość odniesienia			
	zamknięta	0,2	0,1	-3,1	0,05
Status sanitarny	zdrowy (immobilizowany)	wartość odniesienia			
	eliminowany	4,5	2,7	2,5	0,01
	padły	5,9	6,3	1,7	0,09
	inny	1	0,0	-	-
Grupa wiekowa	≤ 1 roku	wartość odniesienia			
	2-3 lata	18,0	17,4	3,0	0,003
	≥ 4 roku życia	21,0	15,4	4,1	<0,001

* $P \leq 0,005$ – wartość istotna

młodzieży i żubrów dorosłych w stosunku do cieląt (tab. 3). Czynnikiem ryzyka dla ekspozycji na BAV-3 w opracowanym modelu statystycznym była natomiast jedynie przynależność do określonej populacji. Podobnie jak przy PIV-3, możliwość zakażenia BAV-3 była istotnie ($P < 0,001$) mniejsza w hodowli zamkniętej. Wynikać to może z ograniczenia kontaktów zarówno z innymi żubrami, czy innymi przeżuwaczami leśnymi, jak również z bydłem domowym i pokazuje skuteczność działań profilaktycznych i kontrolnych stosowanych wśród zwierząt w rezerwach.

Pomimo, że w naszych badaniach prevalencja dla BRSV była na najniższym poziomie, należy pamiętać, że wirus ten może być przyczyną zapaleń płuc i oskrzeli u wolno żyjących przeżuwaczy. Ognisko BRSV miało miejsce na przełomie lat 2000/2001 we włoskich Alpach, gdzie wirus został zidentyfikowany z przypadków licznych upadków z objawami zapaleń płuc u kozic alpejskich (*Rupicapra rupicapra*; 27). Upřednio badana prevalencja dla BRSV u bydła w Polsce wynosiła aż ok. 60% i wzrastała wraz z wiekiem badanych zwierząt (21). Przeciwciała przeciwko temu wirusowi stwierdzano również aż u 31% i 92% bizonów amerykańskich (15, 28). Należy jednak zaznaczyć różnice w gospodarce oboma gatunkami oraz różnice geograficzne, które mają istotny wpływ na różnice w ekspozycji na patogeny.

W kolejnych badaniach należy zwrócić szczególną uwagę na zakażenia tymi patogenami u żubrów, podjąć próbę izolacji wirusów, a także zwrócić uwagę na zakażenia bydła domowego i innych przeżuwaczy wolno żyjących z rejonu Puszczy Białowieskiej. Celowym działaniem ochronnym w hodowli restytucyjnej żubrów wydaje się również utrzymywanie

zamkniętych ośrodków hodowlanych, które dzięki przestrzeganiu procedur weterynaryjnych stanowią rezerwę genetyczną najcenniejszych osobników, rodowodowych żubrów o znanym pochodzeniu.

Piśmiennictwo

- Krasińska M., Krasiński Z.A.: *Żubr. Monografia przyrodnicza*. SFP Hajstra, Warszawa-Białowieża 2004.
- Dackiewicz J.: 80 lat restytucji żubra w Puszczy Białowieskiej. *European Bison Conservation Newsletter*. 2009, 2, 123–128.
- Raczyński J., Bolbot M.: *Księga Rodowodowa Żubrów*. 2015.
- Wróblewski K.: *Żubr Puszczy Białowieskiej*. ZOO Garden Poznań. 1927.
- Krzysiak M.K., Dackiewicz J., Kęsik-Maliszewska J., Laska M.: Post-mortem evaluation of pathological lesions in European bison (*Bison bonasus*) in the Białowieża Primeval Forest between 2008 and 2013. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 2014, 58, 421–431.
- Demiaszkiewicz A.W., Pzytel A.M., Lachowicz J., Kuligowska I.: Robaczka płucna żubrów w Puszczy Białowieskiej. *European Bison Conservation Newsletter*. 2009, 2, 112–118.
- Kita J., Anusz K.: *Choroby zakaźne żubrów w latach 1910–1988. Zagrożenia stanu zdrowia żubrów ze szczególnym uwzględnieniem wolnych populacji w Polsce*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2006, 17–26.
- Krajewska M., Zabost A., Welz M., Lipiec M., Orłowska B., Anusz K., Brewczyński P., Augustynowicz-Kopec E., Szulowski K., Bielecki W., Weiner M.: Transmission of *Mycobacterium caprae* in a herd of European bison in the Bieszczady Mountains, Southern Poland. *Eur. J. Wildl. Res.* 2015, 61, 429–433.
- Żmudziński J.E.: Choroby bydła. W: S. Winiarczyk, Z. Grądzki (red.): *Choroby zakaźne zwierząt domowych z elementami zoonoz*. Lublin 2002, 9–105.
- Taylor J.D., Fulton R.W., Lehenbauer T.W., Step D.L., Confer A.W.: The epidemiology of bovine respiratory disease: What is the evidence for predisposing factors? *Can. Vet. J.* 2010, 51, 1095–1102.
- Thiry E., Vercouter, M., Dubuisson, J., Barrat, J., Sepulchre, C., Gerardy, C., Pastoret, P. P.: Serological survey of herpesvirus infections in wild ruminants of France and Belgium. *J. Wildl. Dis.* 1988, 24, 268–273.
- Krzysiak M.K., Laska M.: Immobilizacja farmakologiczna żubrów. *Med. Weter.* 2014, 70, 172–175.
- Salwa A., Anusz K., Welz M., Wozikowski R., Zaleska M., Kita J.: Analiza sytuacji epizootologicznej u zwierząt gospodarskich i wolno żyjących w Bieszczadach w związku wystąpieniem gruźlicy bydłej u żubrów (*Bison bonasus*). *European Bison Conservation Newsletter* 2011, 4, 71–80.
- Rypuła K., Płoneczka-Janeczko K., Kita J., Kumala A., Żmudziński J.E.: Seroprevalence of BHV-1 (bovine herpesvirus type 1) among non-vaccinated dairy cattle herds with respiratory disorders. *Pol. J. Vet. Sci.* 2012, 15, 561–563.
- Taylor S.K., Lane V.M., Hunter D.L., Eyre K.G., Kaufman S., Frye S., Johnson M.R.: Serologic survey for infectious pathogens in free-ranging American bison. *J. Wildl. Dis.* 1997, 33, 308–311.
- Salwa A., Anusz K., Arent Z., Paprocka G., Kita J.: Seroprevalence of selected viral and bacterial pathogens in free-ranging European bison from the Białowieża Primeval Forest (Poland). *Pol. J. Vet. Sci.* 2007, 10, 19–23.
- Rypuła K., Krasińska M., Kita J., Płoneczka-Janeczko K., Kapuśniak W.: The prevalence of specific antibody to selected viral and bacterial infections in wild ruminants in Poland. *Centr. Eur. J. Immunol.* 2011, 36, 180–183.
- Kita J., Anusz K.: Serologic survey for bovine pathogens in free-ranging European bison from Poland. *J. Wildl. Dis.* 1991, 27, 16–20.
- Borchers K., Brackmann J., Wolf O., Rudolph M., Glatzel P., Krasinska M., Krasinski Z.A., Frölich K.: Virologic investigations of free-living European bison (*Bison bonasus*) from the Białowieża Primeval Forest, Poland. *J. Wildl. Dis.* 2002, 38, 533–538.
- Rypuła K., Wojewoda-Kotwica B.: Epidemiology 590 of infectious bovine respiratory diseases in Poland. *Concepts in the prevention of Bovine Respiratory Disease*. Rome, Italy 2008, 14–15.
- Socha W., Rola J.: Prevalence of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) infections in cattle population in Poland. *Med. Weter.* 2013, 69, 288–290.
- Kędrak-Jabłońska A., Budniak S., Szczawińska A., Reksa M., Krupa M., Krzysiak M., Szulowski K.: Izolacja *Pasteurella multocida* od żubrów. *Międzynarodowa konferencja – Żubr w Bioregionie Mirosławiec*, 4–5 września 2014, 52–53.
- Makoschey B., Lekeux P., Lacroux C., Taylor G., Hodgson C., Letellier C., Meyer G., Coghe J., Müller K., Assié S., Rypuła K., Cavarani S., González-Martín J.V., Hoflack G., Thiry E.: Concepts in the prevention of bovine respiratory disease. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 2008, 121, 446–449.
- Zarnke R.L., Erickson G.A.: Serum Antibody Prevalence of Parainfluenza 3 Virus in a free-ranging bison (*Bison bison*) herd from Alaska. *J. Wildl. Dis.* 1990, 26, 416–419.
- Härtel H., Nikunen S., Nevonen E., Tanskanen R., Kivelä S.L., Aho P., Soveri T., Saloniemi H.: Viral and bacterial pathogens in Bovine Respiratory Disease in Finland. *Acta Vet. Scand.* 2004, 45, 193–200.
- Yeşilbağ K., Alpay G., Karakuzulu H.: A serologic survey of viral infections in captive ungulates in Turkish ZOOS. *J. Zoo Wildl. Med.* 2011, 42, 44–48.
- Citterio C.V., Luzzago C., Sala M., Sironi G., Gatti P., Gaffuri A., Lanfranchi P.: Serological study of population of alpine chamois (*Rupicapra rupicapra*) affected by an outbreak of respiratory disease. *Vet. Rec.* 2003, 153, 592–596.
- Sausker E.A., Dyer N.W.: Seroprevalence of OHV-2, BVDV, BHV-1 and BRSV in ranch-raised bison (*Bison bison*). *J. Vet. Diagn. Invest.* 2013, 14, 68–70.