

Zarządzanie botulizmem zwierząt

Elżbieta Kukier, Magdalena Goldsztejn, Nina Kozieł, Krzysztof Kwiatek

z Zakładu Higieny Pasz Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Botulizm jest poważną chorobą neuroparalityczną, która dotyka ludzi, wszystkie zwierzęta stałocieplne i niektóre ryby. Choroba jest wywoływana

przez neurotoksyny botulinowe (BoNTs), produkowane przez beztlenowe bakterie przetrwalnikujące należące do rodzaju *Clostridium*, określane jako klostridia

produkujące BoNT. BoNTs działają na zakończenia nerwowe, blokując uwalnianie acetylocholiny. Ich moc zależy od aktywności enzymatycznej i selektywnego powinowactwa do wiązania w neuronach (1). Choroba u ludzi nie różni się zasadniczo w objawach klinicznych, rozpoznawaniu, diagnostyce laboratoryjnej, zarządzaniu czy leczeniu od choroby u zwierząt, ale nieliczne przypadki botulizmu ludzi kontrastują z częstym występowaniem botulizmu zwierząt (2, 3). Botulizm jest najprawdopodobniej najpoważniejszą chorobą ptaków

Management of animal botulism outbreaks

Kukier E., Goldsztejn M., Kozieł N., Kwiatek K.,
Department of Hygiene of Animal Feedingstuffs,
National Veterinary Research Institute, Puławy

This paper aims at the characterization of botulism outbreaks current management. Botulism is, often highly fatal toxemia in humans, all warm-blooded animals and some fish, caused by ingestion of the botulinum neurotoxin produced by *Clostridium botulinum*. The clinical picture includes the development of flaccid paralysis over a period of 1 to 3 days, then the animal is becoming recumbent and unable to eat or drink, but is fully conscious. The death is caused by respiratory paralysis. Animal botulism is of serious economic concern because of its high fatality. Furthermore, meat from affected animals entering the food chain presents significant public health threat. For this reason, early diagnosis of botulism is crucial to apply appropriate veterinary public health measures. The diagnosis is based on clinical signs together with laboratory confirmation. Administration of antitoxin and supportive therapies may be applied to treat intoxicated animals, but vaccination with anatoxin is the most effective in preventing botulism outbreaks. This paper describes the management of animal botulism.

Keywords: animal botulism, *Clostridium botulinum*, botulinum toxin, outbreaks.

wędrujących. Więcej niż milion upadków jest zgłaszanych każdego roku, a ogniska rzędu 50 tys. upadków są stosunkowo częste (4). Botulizm zwierząt stanowi poważny problem środowiskowy i ekonomiczny z powodu wysokiej śmiertelności chorych zwierząt. BoNTs i klostridia produkujące BoNT są również istotne z punktu widzenia ich potencjalnego użycia jako broń biologiczna (5). Atak bioterrorystyczny skierowany w populację zwierząt gospodarskich z użyciem wirusów, bakterii lub toksyn może wywołać strach wśród ludzi, powodując poważne konsekwencje ekonomiczne. Z tego powodu agroterroryzm jest brany pod uwagę przez rządy większości krajów (6). Trudność może jednak sprawić przypisanie ogniska choroby zwierząt do ataku biologicznego. W rzeczywistości, w przeciwieństwie do ataków bioterrorystycznych skierowanych na ludzi, ataki bioterrorystyczne na bydło lub drób byłyby trudne do odróżnienia od naturalnych ognisk. Środki zaradcze wobec agroterroryzmu obejmują wymianę informacji między agencjami rządowymi, wzrost świadomości weterynaryjnej ochrony zdrowia publicznego i wspieranie badań mających na celu identyfikację nowych, bardziej skutecznych i szybkich metod zwalczania tych zagrożeń. Artykuł opisuje zarządzanie botulizmem zwierząt, od klinicznego

podejrzenia choroby do praktycznych środków zaradczych celem zapobiegania lub ograniczania zachorowań ptactwa wodnego, drobiu, bydła, koni i zwierząt futerkowych (7).

Klostridia produkujące BoNTs

Clostridium botulinum i niektóre szczepy *C. baratii* i *C. butyricum* są obecnie klasyfikowane jako klostridia produkujące BoNT. Na podstawie ich właściwości genotypowych, fenotypowych i biochemicznych szczepy te są dzielone na 4 grupy: *C. botulinum* (grupy I–IV), *C. butyricum* i *C. baratii*. Grupy I i II, *C. butyricum* oraz *C. baratii* są głównie związane z zatruciami ludzi, gdy organizmy grupy III są głównie odpowiedzialne za botulizm zwierząt. Organizmy grupy IV, znane również pod nazwą *C. argentinense*, są związane z botulizmem przyrannym (8). Na podstawie produkowanych BoNTs, szczepy można dodatkowo podzielić na 7 grup, od A do G. Szczepy grupy I i II są zdolne do wytwarzania toksyn typu A, B, E i F, a grupy III mogą produkować typ C, D i ich warianty mozaikowe C/D i D/C (9, 10). Grupa IV, *C. butyricum* oraz *C. baratii* produkują odpowiedzialne BoNT typu G, E i F. Niektóre szczepy są również zdolne do wytwarzania dwóch toksyn jednocześnie lub mogą nosić drugi nieekspresyjny (niemy) gen (11). Klostridia produkujące BoNT odgrywają istotną rolę w naturalnym obiegu węgla, namnażając się w rozkładającej się materii organicznej (martwe zwierzęta), produkując duże ilości BoNTs. Podłoża o wysokiej zawartości białka są tu niezbędne, ponieważ bakterie te nie syntetyzują niektórych niezbędnych aminokwasów. Kluczową rolę odgrywają również pH, zasolenie osadów wodnych i temperatura. Optymalna temperatura wzrostu wynosi od 25 do 42°C (4). Szczepy typu D mogą wytwarzać toksynę w padlinie w temperaturze tak niskiej, jak 9°C, gdy szczep typu C niemal całkowicie przestaje produkować BoNT/C w 16°C (12). Klostridia produkujące BoNT wydzielają toksyny jako nieaktywne polipeptydy jednołańcuchowe, które następnie są aktywowane przez proteazy bakteryjne lub tkankowe. W przyrodzie BoNTs występują w formie swoich prekursorów (progenitor toxins), zawierając neurotoksynę i związane białka nietoksyczne, które prawdopodobnie odpowiadają za ochronę neurotoksyny przed niekorzystnym wpływem środowiska (13). Geny kodujące BoNT mogą być zlokalizowane na chromosomie lub elementach pozachromosomalnych, jak plazmidy czy bakteriofagi. Charakterystyczne dla bakterii grupy III jest przenoszenie genów toksyczności przez bakteriofagi, które wykazują niestabilny cykl lizogeniczny. Analiza

genomu bakteriofaga wykazała, że istnieje on jako okrągły plazmidowy profag w stanie lizogennym i nie integruje się z chromosomem gospodarza (14). Wrażliwość na BoNTs wydaje się zmienna wśród poszczególnych gatunków zwierząt. Botulizm bydła najczęściej wywołuje toksyna typu D lub D/C, następnie toksyna typu C, chociaż zachorowania na tle BoNT typu A, B i C/D również występowały. U dzikiego ptactwa najczęściej jest wykrywana toksyna typu C, a u ptaków wodnych BoNT/E. U drobiu zwykle występuje toksyna typu C i C/D, ale typ A też był notowany. Toksyna mozaikowa C/D wydaje się bardziej letalna dla kurcząt niż toksyna typu C (15). Ponadto w jelitach ptaków obserwowano bezobjawowe nosicielstwo *C. botulinum* typu D (16). Obrzęk kończyn powodują BoNT typu B, C i A. Botulizm koni jest wywołany przez toksyny typu B, C i A (17). Zwierzęta futerkowe (lis, fretki, norki) są podatne na działanie toksyn typu C i C/D, choć rzadko zgłaszano również ogniska na tle typu A i E (18).

Patogeneza i patofizjologia

BoNT jest czynnikiem etiologicznym botulizmu ludzi i zwierząt. Aktywna BoNT jest wiązana przez receptory nabłonka jelita cienkiego, przenika do krwi, z którą jest transportowana do wszystkich obwodowych zakończeń nerwów cholinergicznych, a tam blokuje uwalnianie neuroprzekaźnika – acetylocholiny, wywołując charakterystyczne porażenie (19). Do zatrucia ludzi czy zwierząt dochodzi najczęściej w wyniku spożycia żywności lub paszy (botulizm pokarmowy), w której jest toksyna (intoksykacja). Namnażaniu beztlenowych bakterii przetrwalnikujących i produkcji BoNTs sprzyjają podłoża typu trawa, siano, gnijąca roślinność, poubojowe odpady zwierzęce, rozkładające się kręgowce i bezkręgowce oraz ściółki. Zwierzęta mogą pobrać BoNTs bezpośrednio z rozkładającą się materią organiczną lub pośrednio przez zjedanie zooplanktonu czy bezkręgowców (np. larwy), które zjadły toksyczny materiał. Larwy much i innych bezkręgowców są niewrażliwe na BoNTs i mogą je gromadzić w organizmie, żerując na toksycznych szczątkach zwierząt. Spożycie toksycznej larwy może prowadzić do śmierci, co jest opisywane jako cykl botulizmu typu padlina-larwa (**ryc. 1**; 4). Istnieje również wiele dowodów na to, że ekspozycja zwierząt na pomiot drobiowy stosowany jako ściółka, pasza lub nawóz może podwyższać ryzyko wystąpienia botulizmu bydła (20, 21). Zwykle toksyny typu C i D są związane z padłymi ptakami lub małymi zwierzętami, które zanieczyszczają wodę, paszę lub środowisko, a toksyny

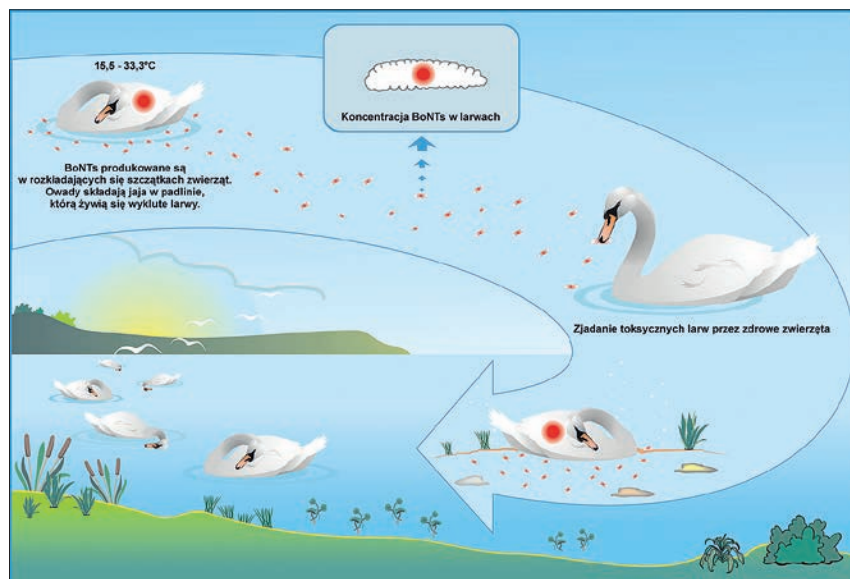
typu A i B wywołują zwykle botulizm niezwiązany z padliną (22, 23). Druga forma botulizmu, nazywana toksykoinfekcją, ma miejsce, gdy BoNTs są produkowane przez patogen *in vivo*, w przewodzie pokarmowym. Tę postać botulizmu opisywano u kurcząt, koni, (24, 25) oraz bydła, co u tego gatunku jest określane jako „botulizm trzewny” (26). Trzecią formą choroby u zwierząt jest botulizm przyranny, gdy w zakażonych ranach kiełkują spory beztlenowców i produkują BoNTs (27).

Objawy kliniczne

Wszystkie formy botulizmu charakteryzuje stopniowe, symetryczne wiotkie porażenie mięśni szkieletowych, zwykle zaczynające się od kończyn tylnych, któremu towarzyszy osłabienie, drżenie mięśni, potknięcia i zaleganie, często kończące się śmiercią. Przebieg choroby może być nadostry, ostry lub przewlekły, co determinuje ilość spożytej toksyny. W niektórych przypadkach mogą występować nagłe zgony. Zwykle objawy kliniczne pojawiają się od 24 godzin do 17 dni. U zwierząt monogastrycznych okres inkubacji jest zwykle krótszy niż u przeżuwaczy, zwłaszcza w przypadku toksykoinfekcji, w której wynosi on od 4 do 14 dni (28). Inne objawy to niechęć do wstawania, nienaturalna pozycja leżąca i nietypowy sposób podnoszenia się zwierząt, sztywny chód, rozjeżdżanie się tylnych kończyn i niezborność. Następnie porażenie obejmuje kończyny przednie, głowę i szyję. Może być widoczne nienaturalne trzymanie głowy, utrata głosu i zaburzenia wzrokowe. Obserwuje się senność, depresję i otępienie, co jest skutkiem utraty napięcia wokół oczu i warg. Oczy mogą się wydawać przymknięte, źrenice rozszerzają się, a odruch źreniczny jest wyraźnie osłabiony.



Ryc. 2. Botulizm bydła – porażenie kończyn (zaleganie) i mięśni szyi (opadanie głowy).



Ryc. 1. Botulizm ptaków, cykl typu padlina – larwa

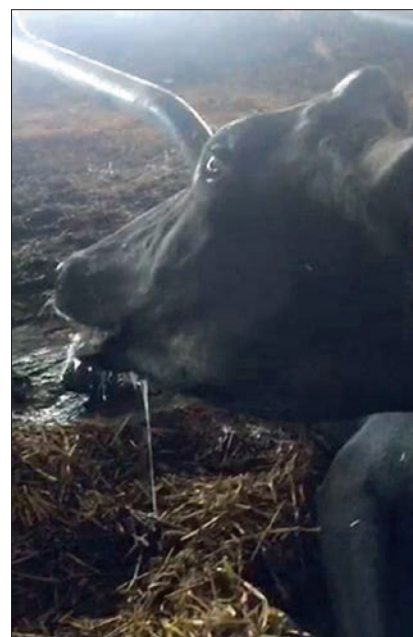
Objawy kliniczne u ptaków

U ptaków porażenie wiotkie postępuje dogłowo, zaczynając od kończyn, obejmując następnie skrzydła, szyję i powieki. Początkowo chore ptaki tracą koordynację ruchów, z czasem tracąc zupełnie zdolność lotu. Ptaki mogą być znajdowane w pozycji siedzącej, nie wykazując chęci do poruszania się. Ptaki wydają się osłabione. Mogą opadać skrzydła, wysuwa się trzecia powieka, następuje drżenie mięśni szyi i niezdolność do utrzymania głowy w pozycji pionowej, co u ptaków wodnych prowadzi do utonięcia. Ptaki mogą leżeć na boku lub brzuchu, zapadają w śpiączkę i umierają (29). Leżące ptaki zrywają się nagle i przemieszczają się kilka kroków. Nie mogą swobodnie się unieść, obciążając kości skokowe. Ptaki wodne, które już utraciły zdolność chodzenia, podciągają się do przodu za pomocą skrzydeł (wiosłowanie) i dzioba (30).

Brojlery zwykle mają potargane upierzenie, ubytki piór w okolicy grzbietowej i zanieczyszczoną okolicę steku (31). Śmiertelność ptaków na tle botulizmu sięga 40%.

Objawy kliniczne u bydła

We wczesnym stadium choroby bydło jest apatyczne, niechętnie do ruchu i sztywne. Mogą pojawić się zaparcia i kolki. Słabość kończyn tylnych powoduje trudność wstawania, dlatego zwierzęta często leżą na mostku. Spada napięcie mięśni szyi (zwierzęta kładą głowę na podłożu lub zawijają na tułów), mięśni żwaczy i języka (łatwo go wyciągnąć z jamy ustnej), mogą opadać uszy, a porażenie gardła powoduje różnego stopnia trudności połykania, widoczne jako wypadanie pokarmu i ślinotok (ryc. 2, 3). W miarę rozwoju choroby



Ryc. 3. Botulizm bydła – porażenie gardła (ślinotok)



Ryc. 4. Botulizm bydła – agonia (położenie boczne)

tracona jest zupełnie zdolność przyjmowania paszy i wody, wypada język, a zwierzęta konają, leżąc na boku i oddychając w typie brzuszny (ryc. 4). Inne objawy kliniczne obejmują fotofobię, zmniejszenie liczby skurczów żwacza, spadek napięcia zwieracza odbytu, porażenie ogona, spadek pH krwi i wzrost liczby tętna (23). Temperatura ciała jest obniżona, z wyjątkiem powikłań, jakim jest zachyłkowe zapalenie płuc. Świadomość jest zachowana, a czucie skórne jest z reguły prawidłowe. Nietypowy przebieg może mieć botulizm bydła na tle toksyny typu B, obejmując biegunkę, obfite ślinienie i wymioty (28). Śmiertelność bydła na tle botulizmu sięga 65%.

Objawy kliniczne u koni

Objawy kliniczne botulizmu dorosłych koni, podobnie jak u bydła obejmują ogólną słabość mięśniową, dysfagię, spadek napięcia ogona, powiek i języka, rozszerzenie źrenic, osłabiony odruch źreniczny, zaleganie, trudności w oddychaniu i śmierć. Powszechny jest też brak łaknienia, utrata masy ciała, morzysko, ślinotok, osłabienie (drżenie) mięśni piersiowych i przednich kończyn oraz tachykardia (16, 32, 33). Toksyna typu C powoduje u koni silniejsze porażenie mięśni zwieraczy źrenic, poważniejsze trudności oddechowe i mniejsze trudności połykania niż toksyny typu A i B. Botulizm źrebiąt opisywany jako „shaker foal syndrome” wydaje się podobny do botulizmu niemowląt. Pierwsze oznaki to drżenie mięśni prowadzące do zalegania. Mogą też wystąpić dysfagia, zaparcia, obniżenie napięcia powiek, języka i ogona, rozszerzenie źrenic, zmniejszona reakcja źrenic na światło i częstomoc (17).

Objawy kliniczne u zwierząt futerkowych

Botulizm najczęściej występuje w miesiącach letnich, a najwyższą wrażliwość na zachorowania wykazują norki i fretki (18, 34, 35). Lisy prawdopodobnie nabyły



Ryc. 5. Masowe padnięcia norek spowodowane botulizmem

odporność na BoNTs w drodze ewolucji i rzadko jest opisywany botulizm tych zwierząt. W przebiegu nadostrym występują drgawki i przenikliwy pisk zwierząt, a padnięcia mogą pojawiać się już po 2–3 godzinach od spożycia toksycznej karmy (36). W ostrym przebiegu objawy kliniczne pojawiają się w ciągu 18–36 godzin po spożyciu karmy. W początkowej fazie choroby zwierzęta wykazują brak koordynacji ruchów, sztywny chód, zcołganie się, wiosłowanie kończynami, szkliste oczy, rozszerzone źrenice, fotofobię, nierzadko obniżoną temperaturę ciała i drgawki. Porażenie mięśni oddechowych utrudnia oddychanie, co sprawia wrażenie jakby zwierzęta próbowały napompować swoje płuca. W kolejnej fazie obserwuje się porażenie wiotkie kończyn tylnych obejmujące następnie kończyny przednie i mięśnie szyi. Czasami objawom intoksykacji towarzyszy ślinotok, opadanie powiek i nietrzymanie moczu, a w końcowym etapie choroby śpiączka. Chore norki, położone na grzbiecie, nie mogą się odwrócić i stanąć na kończynach. Lisy z łagodnymi objawami często przyjmują pozycję siedzącą, podciągając tylną część ciała (18). Najwięcej upadków występuje w pierwszej dobie po spożyciu toksycznej karmy, z malejącą liczbą padnięć w kolejnych dniach trwania choroby (ryc. 5).

Rozpoznanie na podstawie objawów klinicznych

Objawy kliniczne botulizmu zwierząt silnie sugerują chorobę, jednak nie są specyficzne. Wstępną diagnozę opiera się na połączeniu objawów klinicznych, czasie trwania choroby, zmianach sekcyjnych i wykluczeniu innych chorób. Ptaki wodne zapadają na botulizm najczęściej w okresie zmiany upierzenia i towarzyszącej temu niezdolności do latania. Dlatego kluczowe jest odróżnienie pierzących się ptaków od tych w początkowym stadium botulizmu, ponieważ zachowanie zwierząt jest podobne. Ptaki pierzące się jest bardzo trudno

złapać, w porównaniu do ptaków chorych, które tracą zdolność nurkowania i ucieczki. W czasie trwania choroby na tym samym terenie znajdują się ptaki zdrowe, chore i martwe (4). U bydła diagnoza opiera się na objawach klinicznych, epidemiologii ogniska, wynikach badań krwi, zwłaszcza hiperglikemii i neutrofilii (26, 38). Rozpoznanie różnicowe obejmuje hipokalcemię, hipomagnezemię, nadmiar węglowodanów oraz zatrucia mikotoksynami, ołowiem, azotanami, związkami fosforoorganicznymi, atropiną, alkaloidem o działaniu atropinopodobnym, porażenie kleszczowe i porażenną postać wścieklizny (23, 39). U koni diagnoza opiera się na osłabieniu mięśniowym, opadaniu powiek, zwiotczeniu i wypadaniu języka, obniżeniu napięcia ogona i zwieracza odbytu oraz zmniejszonym odruchu źrenicznym. W rozpoznaniu różnicowym należy uwzględnić zatrucia przez toksyczne rośliny, związki fosforoorganiczne, wirusowe zapalenie mózgu koni, uraz ośrodkowego układu nerwowego, pierwotnicze zapalenie mózgu i rdzenia koni, anormalną migrację larw i hiperamonemię (40). U koni żywionych grupowo, dominujące zwierzę je jako pierwsze i zwykle u niego widać pierwsze objawy choroby.

Badanie sekcyjne

Badanie *post mortem* zazwyczaj nie wnosi nic znaczącego, z wyjątkiem przypadków przewlekłych, gdzie mogą wystąpić wtórne patologie, na przykład zmiany typowe dla zachyłkowego zapalenia płuc. Ujemne wyniki sekcji wykluczają jednak inne choroby brane pod uwagę w rozpoznaniu różnicowym. Niektóre szczepy *C. botulinum* typu C i D produkujące również enterotoksyny mogą powodować rozległe krwawienia w jelitach, jednak zmiany te nie są regularne czy wystarczająco specyficzne dla postawienia diagnozy. Mimo to pełna sekcja powinna być wykonana na jak największej liczbie zwierząt, aby wykluczyć inne przyczyny zachorowań. Sprawdzić

Tabela 1. Lista szczepionek przeciwko botulizmowi zwierząt

Nazwa szczepionki	Typ BoNT	Gatunek zwierząt	Dawkowanie	Producent	
Ultravac botulinum	C D	bydło owce	2,5 ml bydło 1,0 ml owce	druga dawka po 4-6 tygodniach dawka przypominająca co roku	Pfizer Animal Health
Longrange	C D	bydło	2,0 ml	pierwsza dawka od 6 tygodnia życia dawka przypominająca co roku	Pfizer Animal Health
Singvac 1-year botulinum	C D	bydło	2,0 ml	dawka przypominająca co roku	Virbac Animal Health
Singvac 3-year botulinum	C D	bydło	2,0 ml	dawka przypominająca po 36 miesiącach	Virbac Animal Health
Websters LV Bivalent botulinum	C D	bydło owce	2,0 ml bydło 1,0 ml owce	druga dawka po 4-6 tygodniach dawka przypominająca co roku	Virbac Animal Health
Botulism Vaccine	C D	bydło konie muły owce kozy	1,0 ml owce i kozy 2,0 ml bydło, konie i muły	druga dawka po 4-6 tygodniach dawka przypominająca co roku	Onderstepoort Biological Products
Botvax B	B	konie	2,0 ml	trzy dawki w odstępach miesiąca dawka przypominająca co roku	Neogeon Corporation
Febrivac 3 plus	C	norki	1,0 ml	dawka przypominająca co roku	Impfstoffwerk-Dessau-Tornau GmbH
Biocom-D	C	norki	1,0 ml	dawka przypominająca co roku	United Vaccines, Inc.
Biocom-P	C	norki	1,0 ml	dawka przypominająca co roku	United Vaccines, Inc.
Biocom	C	norki	1,0 ml	dawka przypominająca co roku	United Vaccines, Inc.
Botumink	C	norki	1,0 ml	dawka przypominająca co roku	United Vaccines, Inc.

należy zwłaszcza treść żołądka na obecność padliny, kości czy larw owadów (29). Botulizm ptaków należy podejrzewać, gdy w treści żołądka mięśniowego martwych ptaków znajdowane są robaki (4). W niektórych przypadkach u koni może wystąpić wyraźny obrzęk głowy i szyi, będący wtórnym skutkiem długotrwałej, nienaturalnej postawy (40). U zwierząt futerkowych zawsze stwierdza się przekrwienie płuc.

Rozpoznanie na podstawie badań laboratoryjnych

Botulizm można potwierdzić laboratoryjnie poprzez wykazanie obecności BoNT lub bakterii *Clostridium* spp. produkujących BoNT w materiale biologicznym od chorego zwierzęcia (surowica, treść przewodu pokarmowego, narządy wewnętrzne, jak wątroba czy śledziona, wymaz z rany), w paszy lub bliskim otoczeniu chorych zwierząt bądź na podstawie poprawy stanu zdrowia w odpowiedzi na antytoksynę botulinową (16). Do wykazania obecności BoNTs w próbkach pochodzących z podejrzenia botulizmu służy próba biologiczna na myszach (mouse bioassay – MBA), określana jako „złoty standard”. Warto podkreślić, że wynik ujemny MBA nie wyklucza botulizmu, ponieważ toksyna może być obecna na poziomie niższym niż granica wykrywalności MBA, zwłaszcza u zwierząt bardzo wrażliwych na BoNTs (konie, norki, bydło) lub też może zostać rozłożona przez mikroflorę jelita (41). Ponieważ klostridia produkujące BoNTs nie

są naturalną mikroflorą jelit, a dostają się tam z zanieczyszczonym pokarmem, wykazanie obecności spor w treści przewodu pokarmowego lub w tkankach zwierząt manifestujących objawy botulizmu wskazuje na zatrucie. Stwierdzenie obecności spor w narządach czy tkankach chorych zwierząt wskazuje na toksykoinfekcję. Dodatkowym potwierdzeniem botulizmu są typowe objawy kliniczne, a także zdrowienie zwierząt po podaniu antytoksyn neutralizujących BoNTs. Wykazanie obecności BoNTs lub klostridiów produkujących BoNTs w paszy, którą były karmione zwierzęta przed zachorowaniem, może zidentyfikować źródło zatrucia, zapobiegając następnym zachorowaniom (39). Aby zwiększyć szansę efektywnej diagnostyki laboratoryjnej, wszystkie próbki do badań powinny być pobrane możliwie jak najszybciej od wystąpienia pierwszych objawów choroby czy upadków zwierząt.

Leczenie

W przypadku podejrzenia botulizmu zwierząt, pierwszym i kluczowym antidotum jest poliwalentna antytoksyna, która neutralizuje BoNTs obecną we krwi przed jej związaniem w synapsach nerwowo-mięśniowych. Antybiotykoterapia jest stosowana w zachłystowym zapaleniu płuc i botulizmie przyranym. Leki przeciw bakteriom beztlenowym mogą zaostrzać chorobę, poprzez lizę komórek wegetatywnych patogennych bakterii i uwalnianie jeszcze większej ilości BoNTs do chorego organizmu. Aminoglikozydy mogą

nasilać słabość mięśniową i niedepolaryzujący typ bloku nerwowo-mięśniowego. Pozytywne efekty antybiotykoterapii beta-laktamami wykazano jednak w botulizmie drobiu powstałym w wyniku toksykoinfekcji. Inne formy pomocy to leczenie wspomagające (nawadnianie doustne i dożylnie) oraz ograniczenie aktywności fizycznej (42, 43). U bydła, z dużą skutecznością są stosowane szczepienia interwencyjne w momencie wybuchu choroby, które ograniczają liczbę kolejnych zachorowań. Leczone ptaki należy utrzymywać w kojcach, które zapewniają swobodny dostęp do świeżej wody, cienia i spokoju. W wielu ciężkich przypadkach, po postawieniu diagnozy zalecana jest eutanazja z powodu braku możliwości zapewnienia dobrostanu chorych zwierząt (28, 43).

Profilaktyka

Profilaktyka botulizmu zwierząt obejmuje zapewnienie bezpiecznej, wysokiej jakości paszy dla zwierząt, właściwe przechowywanie paszy, sprawdzanie źródeł wody dla zwierząt na obecność martwych zwierząt (ptaki, małe zwierzęta), unikanie nawożenia łąk i pastwisk pomiotem drobiowym zawierającym martwe ptaki, zaprzestanie stosowania pomiotu drobiowego jako ściółki w pomieszczeniach dla zwierząt oraz szczepienie zwierząt. Szansą na wysokiej jakości pasze jest stosowanie przez rolników i producentów pasz dobrych praktyk rolniczych i dobrych praktyk produkcyjnych, które wykluczają stosowanie pomiotu drobiowego zawierającego padłe ptaki na

terenach rolniczych, z których są pozyskiwane materiały paszowe, zgodnie z przepisami prawa Unii Europejskiej (44, 45, 46). Rolnicy powinni kontrolować jakość zakiszanych materiałów (zielonek) i odrzucać te, które noszą ślady zanieczyszczenia przez pleśń czy gnicie. Obecne metody mieszania i podawania pasz, zwłaszcza w fermach bydła, powodują, że nawet niewielka ilość groźnych zanieczyszczeń może łatwo trafić do wielu zwierząt. Pasze dla zwierząt produkowane bez zakwaszania są szczególnie podatne na namnażanie klostridiów produkujących BoNTs. Zakwaszanie pasz znacząco obniża ryzyko produkcji BoNTs, jednak nie eliminuje go zupełnie. Ponadto rozkładające się zwłoki zwierząt przed wprowadzeniem ich do paszy już mogą zawierać duże ilości BoNTs (47).

Profilaktyka botulizmu ptactwa wodnego zależy od poznania interakcji zachodzących między patogenem, gospodarzem i środowiskiem. Ponieważ przetrwalniki *Clostridium* spp. występują powszechnie w osadach wodnych, próby ich wyeliminowania są obecnie niemożliwe do zrealizowania. Niektóre jednak działania mogą wpływać na warunki środowiskowe, zwiększając prawdopodobieństwo wybuchu botulizmu. Zalewanie i osuszanie terenów powodziowych, pestycydy czy inne toksyczne substancje stosowane w rolnictwie, podobnie jak niedotlenienie osadów w zbiornikach wodnych, może zabijać organizmy akwakultury, stwarzając dogodne warunki dla namnażania klostridiów produkujących BoNTs (4, 29). Skutecznym sposobem hamowania wzrostu klostridiów produkujących BoNTs jest efektywne usuwanie pożywki dla tych drobnoustrojów, poprzez redukcję materii organicznej wprowadzanej na tereny podmokłe, eliminację czynników podwyższających ilość gnijących zwłok zwierząt, a także szybkie usuwanie i bezpieczna utylizacja padłych kregowców (stosowane również w gospodarstwach; 48, 49).

Szczepienia stymulujące produkcję przeciwciał neutralizujących BoNTs skutecznie zapobiegają botulizmowi zwierząt. Na rynku leków weterynaryjnych dostępne są szczepionki dla norek, bydła, owiec, koni i mułów, jednak do Europy są one zwykle importowane ze Stanów Zjednoczonych, Afryki Południowej czy Australii (tab. 1). W niektórych państwach europejskich szczepionki dla bydła są dostępne jedynie na potrzeby krajowe, a proces uzyskania pozwolenia na import spoza Unii Europejskiej jest dość czasochłonny. W Polsce wniosek o zgodę na import szczepionki należy składać do Głównego Lekarza Weterynarii, a przepisy prawa regulujące to zagadnienie są ujęte w dyrektywie 2001/82/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, którą w Polsce implementuje ustawa z dnia 6 września 2001 r. – Prawo farmaceutyczne (50, 51).

Jedynym gatunkiem zwierząt regularnie immunizowanym w Europie są norki. Bydło i konie są szczepione nieregularnie, zwykle w dużym ognisku choroby lub na terenach skażonych endemicznie (7). Przykładem jest tu Izrael, gdzie program szczepień przeciw BoNT typu C i D rozpoczyna się w bydła w wieku 2 miesięcy, obejmuje dwie dawki w odstępie 4 tygodni oraz coroczne doszczepianie. Tego typu immunizacja indukuje wysoką odporność zwierząt przez dłuższy okres (52). Szczepienia są też stosowane u brojlerów, bażantów i kaczek. U drobiu wodnego immunizacja obniża ryzyko reintoksykacji. Zwykle podawane są dwie dawki szczepionki w odstępie 14 dni (53). Im większa jest liczba dawek szczepionki, tym wyższy poziom odporności organizmu (54). Zrebięta mogą być szczepione już w wieku 2 tygodni, ale o ich odporności decyduje też szczepienie ciężarnych kłacz, które z siałą przekazują oseskom przeciwciała przeciwbotulinowe.

Podsumowanie

Według prawa UE botulizm jest chorobą zakaźną, która podlega europejskiej sieci nadzoru epidemiologicznego, a jednocześnie jest zoonozą, której monitorowanie zależy od sytuacji epidemiologicznej w kraju, co określa dyrektywa 2003/99/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 17 listopada 2003 r. w sprawie monitorowania chorób odzwierzęcych i odzwierzęcych czynników chorobotwórczych (55). Liczba przypadków botulizmu ludzi jest co roku raportowana przez kraje członkowskie Unii Europejskiej do European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), jednak nadal nie ma obowiązku zgłaszania botulizmu zwierząt, co jest jednym z powodów niedoszacowania skali zachorowań. Inne przyczyny to lęk hodowców przed ograniczeniami w sprzedaży surowców żywnościowych pozyskanych od zwierząt, w przypadku potwierdzenia choroby oraz niska świadomość tego zagrożenia w społeczeństwie. Mimo to wydarzenia z ostatnich lat pokazują, że jest to narastający problem (emerging disease) w Europie. Ponadto wyraźnie odczuwalny jest brak europejskiego producenta szczepionek i antytoksyn botulinowych dla zwierząt, co sprawia, że pogłowie zwierząt na tym kontynencie jest zdecydowanie bardziej wrażliwe na zachorowania, a hodowcy zwierząt doświadczają większych strat ekonomicznych.

Diagnostykę laboratoryjną botulizmu zwierząt w Polsce prowadzi Zakład Higieny Pasz PIWet-PIB w Puławach, gdzie są prowadzone badania na obecność BoNTs i bakterii *Clostridium* spp. produkujących BoNTs w materiale biologicznym zwierząt (surowica, treść przewodu pokarmowego, kał, wątroba, śledziona, wymazy z ran),

w paszy lub próbkach środowiskowych (np. ściółka, kurz itd.). Do badań diagnostycznych jest stosowana metoda referencyjna (próba biologiczna na myszach) oraz metody oparte na technice PCR.

Sfinansowano ze środków dotacji KNOW Konsorcjum Naukowego „Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność”, decyzja Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 05-1/KNOW2/2015.

Autorzy dziękują Panu Jackowi Choinie z Działu Systemów Informatycznych PIWet-PIB w Puławach za pomoc w przygotowaniu tej publikacji.

Piśmiennictwo

1. Peck M.W.: Biology and genetic analysis of *Clostridium botulinum*. *Adv. Microb. Physiol.* 2009, **75**, 183–265.
2. Critchley E.M.: A comparison of human and animal botulism: a review. *J. R. Soc. Med.* 1991, **84**, 295–298.
3. Lindström M., Myllykoski J., Sivelä S., Korkeala H. *Clostridium botulinum* in cattle and dairy products. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 2010, **50**, 281–304.
4. Rocke T.E., Friend M.: Avian botulism. W: Ciganovich EA, (ed.): *Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds*. Washington, DC: US Geol. Surv. 1999, 271–281.
5. Arnon S.S., Schechter R., Inglesby T.V.: Botulinum toxin as a biological weapon. *J. Am. Med. Assoc.* 2001, **285**, 1059–1070.
6. Yeh J.Y., Seo H.J., Cho Y.S.: Livestock agroterrorism: the deliberate introduction of a highly infectious animal pathogen. *Foodborne Pathog. Dis.* 2012, **9**, 869–877.
7. Anniballi F., Fiore A., Löfström Ch., Skarin H., Auricchio B., Woudstra C., Bano L., Segerman B., Koene M., Bäverud V., Hansen T., Fach P., Tevell Åberg A., Hedeland M., Olsson Engvall E., De Medici D.: Management of animal botulism outbreaks: from clinical suspicion to practical countermeasures to prevent or minimize outbreaks. *Biosec. and Bioterr. Biodef. Strat. Pract. Sci.* 2013, **11**, 191–199.
8. Taylor S.M., Wolfe C.R., Dixon T.C., Ruch D.S., Cox G.M.: Wound botulism complicating internal fixation of a complex radial fracture. *J. Clin. Microbiol.* 2010, **48**, 650–653.
9. Takeda M., Kasai H., Torii Y.: Protective effect of botulinum C/D mosaic toxoid against avian botulism. *J. Vet. Med. Sci.* 2006, **68**, 325–330.
10. Nakamura K., Kohda T., Umeda K., Yamamoto H., Mukamoto M., Kozaki S.: Characterization of the D/C mosaic neurotoxin produced by *Clostridium botulinum* associated with bovine botulism in Japan. *Vet. Microbiol.* 2010, **140**, 147–154.
11. Santos-Buelga J.A., Collins M.D., East A.K.: Characterization of the gene encoding the botulinum neurotoxin complex in a strain of *Clostridium botulinum* producing type B and F neurotoxins. *Curr. Microbiol.* 1998, **37**, 312–318.
12. Ortiz N.E., Smith G.R.: The production of *Clostridium botulinum* type A, B and D toxin in rotting carcasses. *Epidemiol. Infect.* 1994, **113**, 335–343.
13. Fujinaga Y., Inoue K., Watanabe S., et al.: The haemagglutinin of *Clostridium botulinum* type C progenitor toxin plays an essential role in binding of toxin to the epithelial cells of guinea pig small intestine, leading to the efficient absorption of the toxin. *Microbiol.* 1997, **143**, 3841–3847.
14. Sakaguchi Y., Hayashi T., Kurokawa K.: The genome sequence of *Clostridium botulinum* type C neurotoxin converting phage and the molecular mechanisms of unstable lysogeny. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005, **29**, 17472–17477.
15. Takeda M., Tsukamoto K., Kohda T., Matsui M., Mukamoto M., Kozaki S.: Characterization of the neurotoxin produced by isolates associated with avian botulism. *Avian Dis.* 2005, **49**, 376–381.
16. Deprez P.R.: Tetanus and botulism in animals. W: Mainil J, (ed): *Clostridia in Medical, Veterinary and Food Microbiology – Diagnosis and Typing*. Luxembourg: European Commission 2006, 27–36.
17. Wylie C.E., Proudman C.J.: Equine grass sickness: epidemiology, diagnosis, and global distribution. *Vet. Clin. Equine* 2009, **25**, 381–399.
18. Lindström M., Nevas M., Kurki J.: Type C botulism due to toxic feed affecting 52,000 farmed foxes and minks in Finland. *J. Clin. Microbiol.* 2004, **42**, 4718–4725.

19. Simpson L.L.: Identification of the major steps in botulinum toxin action. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2004, **44**, 167–193.
20. Smart J.L., Jones T.O., Clegg F.G., McMurtry M.J.: Poultry waste associated type C botulism in cattle. *Epidemiol. Infect.* 1987, **98**, 73–79.
21. Jean D., Fecteau G., Scott D., Higgins R., Quessy S.: *Clostridium botulinum* type C intoxication in feedlot steers being fed ensiled poultry litter. *Can. Vet. J.* 1995, **36**, 626–628.
22. Payne J.H., Hogg R.A., Otter H.L.J., Livesey C.T.: Emergence of suspected type D botulism in ruminants in England and Wales (2001–2009), associated with exposure to broiler litter. *Vet. Rec.* 2011, **168**, 640.
23. Sharpe A.E., Brady C.P., Moriarty J., O'Neill P., McLoughlin J.G.: Major outbreak of suspected botulism in a dairy herd in the Republic of Ireland. *Vet. Rec.* 2008, **162**, 409–412.
24. Roberts T.A., Collings D.F.: An outbreak of type C botulism in broiler chickens. *Avian Dis.* 1973, **17**, 650–658.
25. Swerczek T.W. Toxicoinfectious botulism in foals and adult horses. *J. Am. Vet. Assoc.* 1980, **176**, 217–220.
26. Böhnell H., Schwagerick B., Gessler F.: Visceral botulism – a new form of bovine *Clostridium botulinum* toxication. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.* 2001, **48**, 373–383.
27. Liguori V., De Lulisi P., Fenicia F., Annibaldi F., Aureli P.: A case of wound botulism in a foal affected by gastric ulcers in Italy. *J. Equine Vet. Sci.* 2008, **28**, 476–478.
28. Hogg R., Livesey C., Payne J.: Diagnosis and implications of botulism. *In Pract.* 2008, **30**, 392–397.
29. Neimanis A., Gavier-Widen D., Leighton F., Bollinger T., Rocke T., Mörner T.: An outbreak of type C botulism in herring gulls (*Larus argentatus*) in southern Sweden. *J. Wildl. Dis.* 2007, **43**, 327–336.
30. Dohms J.E., Allen P.H., Rosenberger J.K.: Case of type C botulism in broiler chickens. *Avian Dis.* 1981, **26**, 204–210.
31. Sharpe A.E., Sharpe E.J., Ryan E.D., Clarke H.J., McGettrick S.A.: Outbreak of type C botulism in laying hens. *Vet. Rec.* 2011, **168**, 669.
32. Johnson A.L., McAdams S.C., Whitlock R.H.: Type A botulism in horses in the United States: a review of the past ten years (1998–2008). *J. Vet. Diagn. Invest.* 2010, **22**, 165–173.
33. Whitlock R.H., McAdams B.S.: Equine Botulism. *Clin. Tech. Equine Pract.* 2006, **5**(1), 37–42.
34. Harrison S.G., Borland E.D.: Deathisferrets (Mustelaputorius) due to *Clostridium botulinum* type C. *Vet. Rec.* 1973, **93**, 576–577.
35. Myllykoski J., Lindström M., Bekema E., Pölöne L., Korkeala H. Fur animal botulism hazard due to feed. *Res. Vet. Sci.* 2011, **90**, 412–418.
36. Quortrup E.R., Gorham J.R.: Susceptibility of furbearing animals to the toxins *Clostridium botulinum* types A, B, C, and E. *Am. J. Vet. Res.* 1949, **10**, 268–271.
37. www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/disease-images.php?name=botulism
38. Montecucco C., Schiavo G.: Mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins. *Mol. Microbiol.* 1994, **13**, 1–8.
39. Kelch W.J., Kerr L.A., Pringle J.K., Rohrbach B.W., Whitlock R.H.: Fatal *Clostridium botulinum* toxicosis in eleven Holstein cattle feed round bale barley haylage. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2000, **12**, 453–455.
40. Ostrowski S.R., Kubiski S.V., Palmero J.: An outbreak of equine botulism type A associated with feeding grass clippings. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2012, **24**, 601–603.
41. Allison M.J., Maloy S.E., Matson R.R.: Inactivation of *Clostridium botulinum* toxin by ruminal microbes from cattle and sheep. *Appl. Environ. Microbiol.* 1976, **32**, 685–688.
42. Martin S.: *Clostridium botulinum* type D intoxication in a dairy herd in Ontario. *Can. Vet. J.* 2003, **44**, 493–495.
43. Braun U., Feige K., Schweizer G., Pospischil A.: Clinical findings and treatment of 30 cattle with botulism. *Vet. Rec.* 2005, **156**, 438–441.
44. Cobb S.P., Hogg R.A., Challoner D.J.: Suspected botulism in dairy cows and its implication for the safety of human food. *Vet. Rec.* 2002, **150**, 5–8.
45. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 142/2011 z dnia 25 lutego 2011 r. w sprawie wykonania rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 określającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego, nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi, oraz w sprawie wykonania dyrektywy Rady 97/78/WE w odniesieniu do niektórych próbek i przedmiotów zwolnionych z kontroli weterynaryjnych na granicach w myśl tej dyrektywy.
46. Dyrektywa Rady 2007/43/WE z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie ustanowienia minimalnych zasad dotyczących ochrony mięsą utrzymywanych z przeznaczeniem na produkcję paszy.
47. Myllykoski J., Linström M., Keto-Timonen R.: Type C bovine botulism outbreak due to carcass contaminated non-acid silage. *Epidemiol. Infect.* 2009, **137**, 284–93.
48. Duncan R.M., Jensen W.I.: A relationship between avian carcasses and living invertebrates in the epizootiology of avian botulism. *J. Wildl. Dis.* 1976, **12**, 116–126.
49. Evlsizer D.D., Clark R.G., Bollinger T.K.: Relationship between local carcass density and risk of mortality in molting mallards during avian botulism outbreaks. *J. Wildl. Dis.* 2010, **46**, 507–513.
50. Dyrektywa 2001/82/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 6 listopada 2001 r. w sprawie wspólnotowego kodeksu odnoszącego się do weterynaryjnych produktów leczniczych.
51. Ustawa z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne z późn. zm.
52. Steinman A., Chaffer M., Elad D., Shpigel N.Y.: Quantitative analysis of level of serum immunoglobulin G against botulinum neurotoxin type D and association with protection in natural outbreaks of cattle botulism. *Clin. Vaccine Immunol.* 2006, **13**, 862–868.
53. Martinez R., Wesber G. Immunization of ducks for type C botulism. *J. Wildl. Dis.* 1999, **35**, 710–715.
54. Dohms J.E., Allen P.H., Cloud S.S.: The immunization of broiler chickens against type C botulism. *Avian Dis.* 1982, **26**, 340–345.
55. Dyrektywa 2003/99/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z 17 listopada 2003 r. w sprawie monitorowania chorób odzwierzęcych i odzwierzęcych czynników chorobotwórczych.

Dr n. wet. Elżbieta Kukier, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: elawoj@piwet.pulawy.pl