

MIKOPLAZMOZA KOKOŠI TEŠKIH HIBRIDA U
REPUBLICI HRVATSKOJ OD 1993. DO 1998.

Tajana Amšel Zelenika, V. Savić, Mirta Balenović

Sažetak

Istražena je učestalost infekcije kokoši teških hibrida vrstama *Mycoplasma gallisepticum* (MG) i *M. synoviae* (MS) u razdoblju od 1993. do 1998. u Republici Hrvatskoj. Probom brze serumske aglutinacije (BSA) pretraženo je ukupno 11636 uzoraka seruma kokoši na nazočnost protutijela za MG odnosno 6363 uzoraka na nazočnost protutijela na MS.

Nađena je učestalost infekcije od MG u rasplodnih nesilica od 0,08% do 1,6%, a u tovnih pilića od 0% do 12,8%. Velika učestalost infekcije tovnih pilića ovim mikroorganizmom tijekom 1997. (9,9%) i 1998. (12,8%) za razliku od prethodnih godina (0 do 0,2%) moguće je prouzročena i učestalim uvozom u Republiku Hrvatsku rasplodnih "brojlerskih" jaja te jednodnevnih i 4-5 tjednih tovnih pilića. Za razliku od niske učestalosti infekcije od MG u roditeljskim jatima, infekcija MS je nađena u rasponu od 15,1% do čak 29,7%. Razlozi daleko učestalije infekcije od MS nego od MG i u rasplodnim i u tovnim (do 24,4%) jatima vjerojatno leže u činjenici da držaoci rasplodnih jata posvećuju znatno manju pažnju infekciji od MS no infekciji od MG. Stoga, u cilju suzbijanja mikoplazmoza kokoši u Republici Hrvatskoj, osim poboljšanja higijene i uzgojnim mjerama, posebnu pažnju valja posvetiti pravodobnom otkrivanju infekcije kako od MG, tako i od MS. Sustavni program za iskorjenjivanje mikoplazmoze je oslobađanje čistih linija, te rasplodnih djedovskih i roditeljskih jata kokoši od infekcije mikoplazmama ili uvoz takvih jata. Osim postupaka za iskorjenjivanje infekcije, može se pristupiti i drugim mjerama, a to su upotreba antimikrobnih lijekova i imunoprofilaktičke mjere.

Naročito treba voditi računa o kontroli i karantenskim uvjetima pri uvozu kokoši i ostale peradi, kao i jajima namjenjenim inkubiranju.

Glavne riječi: Mikoplazmoza, infekcija, kokoš, Hrvatska

Uvod

Mikoplazmoze su od velike važnosti u peradarskoj industriji jer često prouzrokuju bolest u kombinaciji s drugim patogenim mikroorganizmima. U

Tajana Amšel Zelenika dr. vet. med., mr. sc. Vladimir Savić, Mirta Balenović dr. vet. med., Hrvatski veterinarski institut, Centar za peradarstvo, Heinzelova 55, Zagreb.

peradi je izdvojeno dvadesetak vrsta mikoplazmi od kojih su četiri patogene za domaću perad. *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *Mycoplasma synoviae* (MS) i *M. iowe* (MI) patogene su za kokoši i purana, dok je *M. meleagridis* (MM) patogena samo za purana (Bradbury, 1993.).

Mycoplasma gallisepticum je uzročnik kronične dišne bolesti (KDB) koja se, osim dišnih simptoma, očituje blagim padom nesivosti ili slabijim prirastom uz mali postotak uginuća. Bolest je često komplicirana sekundarnom infekcijom od *E.coli*, virusom zaraznog bronhitisa ili virusom newcastleske bolesti te prouzrokuje jaku upalu zračnih vrećica (Ley i Yoder, 1997.). U jatu nesilica inficiranih mikoplazmama kontaminirano je 10-40% jaja što dovodi do uginuća zametka tijekom inkubiranja ili se izlegu već inficirani pilići koji obole u dobi od 4-16 tjedana. MG se prenosi izravnim dodirnom, onečišćenim zrakom, steljom, transovarijalno i spolnim putem. Unutar farme infekcija se sporo širi od peradnjaka do peradnjaka osim ako je perad u izravnom dodiru. U jato se infekcija može unijeti virusnim vakcinama pripremljenim na kontaminiranim kokošjim jajima ili staničnim kulturama. Jačini i dužini trajanja bolesti doprinose različiti stresovi (prenapućenost, povećana količina amonijaka u peradnjaku, prevelika vlaga, neprimjerena temperatura, oštećenja sluznice dišnog sustava druge etiologije i općenito sve što slabi otpornost organizma) (Naglić i Busch, 1998.).

Mycoplasma synoviae često uzrokuje subkliničke infekcije prednjeg dijela dišnog sustava koje se aktiviraju u prisutnosti drugih mikroorganizama. Može prouzročiti infekciju zračnih vrećica u kombinaciji s uzročnikom newcastleske bolesti ili zaraznog bronhitisa. Bolest se javlja u svih dobnih kategorija kokoši, a prenosi se horizontalno i vertikalno (Kleven, 1997.). Duljina trajanja i tijek infekcije pojačani su u zimskim mjesecima, a posebice u uzgojima s pogreškama u tehnologiji (hladnoća, povišena temperatura i vlaga) i hranidbi te s različitim stresovima (Naglić i Busch, 1998; Mazija, 1994.).

Dva do tri tjedna nakon infekcije, u serumu inficirane peradi mogu se brzom serumskom aglutinacijom, sporom aglutinacijom, imunoenzimnim testom ili inhibicijom hemaglutinacije naći protutijela za mikoplazme (Stipkovits i Kempf, 1996.). Mikoplazme se mogu izdvojiti i identificirati iz obriska sluznice nosa, ždrijela, dušnika, zračnih vrećica, kloake, sadržaja infraorbitalnih sinusa i zglobova, a za uzgoj se rabe specijalne selektivne podloge (Naglić i Busch, 1998.). U novije se vrijeme za identifikaciju i razlikovanje sojeva koriste testovi analize DNA (engl. *Polymerase chain reaction (PCR)*, *Restriction Fragment Length Polymorfisms – RFLP*, *Southern Blotting*) (Dovč, 1993.).

Suzbijanju mikoplazmoze peradi može se pristupiti na tri načina: uporabom antimikrobnih lijekova (Streptomycin, oksitetraciklin, klortetraciklin, eri-

tromicin, magnamicin, spiramicin, kitasamicin, tilozin, linkomicin, spektinomycin, gentamicin, kloramfenikol, tiamulin, josamicin, doksaciklin i drugi), imunoprofilaktičkim mjerama i postupcima za iskorjenjivanje infekcije (Naglić i Busch, 1998).

Dobrim izborom terapije mogu se smanjiti gubici ali ne i sama infekcija. Osjetljivost prema pojedinim lijekovima različita je te ovisi o vrsti mikoplazme, načinu i trajanju terapije i o dozi samog lijeka. Kombinacija više lijekova pokazala se uspješnijom negoli davanje samo jednog lijeka (Naglić i Busch, 1998).

Prva zadaća u sustavnom programu za iskorjenjivanje mikoplazmoze u jednoj zemlji je oslobađanje čistih linija, te rasplodnih djedovskih i roditeljskih jata kokoši od infekcije mikoplazmama ili uvoz takvih jata (Naglić i Busch, 1998.).

Za jata koja ne pokazuju kliničke simptome obično se koristi preventivno liječenje. U tom sličaju koristi se tilozin, s/c po 35 mg/0,5 kg tjelesne mase ili se daje 2 do 3 grama na 3,790 l vode za piće tijekom 3 do 5 dana (Naglić i Busch, 1998).

Za iskorjenjivanje mikoplazme u matičnim jatima kokoši, sprječavanje zaraze u njihovih potomaka, tovnih pilića te konzumnih nesilica, pristupa se principu uranjanja jaja u hladnu otopinu antibiotika. Ovaj princip prikladan je za veliki broj rasplodnih jaja napose u proizvodnji tovnih pilića. U tom postupku očišćena rasplodna jaja, dezinficirana uobičajenim načinom plinjenja formalinom, zagrijavaju se na temperaturi od 37,8 °C a potom uranjaju u hladnu otopinu (1,67-4,47 °C) antibiotika (400-1000 ppm tilozina ili eritromicina) i tako ostaju tijekom 15-20 minuta. Jaja se postupno hlade i kroz ljusku upijaju antibiotike. Količina primijenjenog tilozina u pojedinim jaja varira, jer ovisi o poroznosti ljuske (Naglić i Busch, 1998).

Sličan učinak prethodnom postupku postiže se pomoću podtlaka. Očišćena i formalinom dezinficirana jaja, uskladištena pri 14 °C, uranjaju se u otopinu antibiotika iste temperature desetak minuta u posudi u kojoj je umjetno izazvan podtlak (0,4 BAR) a zatim, narednih dvadesetak minuta kada se u posudi uspostavi normalni tlak, kako bi otopina antibiotika ušla u zračnu komoricu jaja dok se i u njoj ne izjednači podtlak s vanjskim tlakom. I u ovom postupku svako jaje ne primi istu količinu antibiotika zbog poroznosti ljuske (Naglić i Busch, 1998).

Toplinskom obradom jaja prije inkubiranja mikoplazme gube infektivnost ako se 1 sat drže pri temperaturi od 45°C. Zametak na početku inkubiranja bez štete izdrži i višu temperaturu. Radi dekontaminiranja, jaja se prije inkubacije tijekom 12 do 14 sati zagriju od sobne temperature (25,6°C) na temperaturu od

46,1 °C u unutrašnjosti jaja. Nepovoljna strana ovog načina je uginuće 15% tretiranih embrija (Naglić i Busch, 1998).

Izravnim injiciranjem tilozina (1.0-1,5 mg po jajetu) ili kombinacije linkomicina i spektinomicina u zračnu komoricu jaja prije inkubiranja ili između petog i jedanaestog dana inkubiranja, postižu se bolji rezultati nego u prije opisanim postupcima. Pomoću posebnih uređaja može se istodobno inokulirati više stotina jaja, ukupno 20000-30000 jaja na sat (Naglić i Busch, 1998).

Obradom jaja antimikrobnim lijekovima ili toplinom može se smanjiti prijenos mikoplazmi, ali se potpuno ne prekida. Da bi se jata sačuvala od infekcije mikoplazmama poželjno je da potječu od rasplodnih jata bez mikoplazmi. Također je važno da se na peradarskoj farmi drži samo jedna dozna kategorija. Sistem *all in - all out* (sve unutra, sve van) omogućava provođenje dezinfekcije između dvaju proizvodnih ciklusa, što je važan preduvjet za uspjeh programa, odnosno proizvodnje. Ako se tijekom iskorjenjivanja mikoplazmoze u rasplodnim jatima pojave infekcije vrstama *Mycoplasma gallisepticum* i *Mycoplasma synoviae*, takva se jata obično isključuju iz daljnjeg uzgoja, a u proizvodnim jatima tovnih pilića upotrebljavaju se antibiotici (Naglić i Busch, 1998.).

Održavanje dobrih higijenskih uvjeta tijekom nasađivanja, inkubiranja i leženja pilića sprečava se horizontalan prijenos uzročnika, a to je bitan preduvjet za uspješno iskorjenjivanje mikoplazmoze (Naglić i Busch, 1998.; Mazija, 1994.).

U razdoblju od 1990. do 1993. Nemanič i sur. (1994.) našli su učestalost infekcije kokoši vrstom MG u rasponu od 0,2 – 11,3% te vrstom MS u rasponu od 7,6 – 25,5%.

Cilj je ovog istraživanja odrediti učestalost infekcije kokoši teških hibrida na području Republike Hrvatske mikoplazmama u razdoblju od 1993. do 1998. godine.

Materijal i metode rada

Pretraženo je ukupno 10356 rasplodnih nesilica kokoši teških hibrida i 1280 tovnih pilića na nazočnost protutijela za MG te 5439 rasplodnih nesilica i 924 tova piletina na nazočnost protutijela za MS tijekom razdoblja od 1993. do 1998.

Krv za serološke pretrage uzeta je od nasumice odabranih ptica različite dobi i iz različitih farmi diljem Hrvatske.

Rezultati istraživanja

Rezultati brze serumske aglutinacije za nazočnost protutijela za *Mycoplasma gallisepticum* i *Mycoplasma synoviae* u rasplodnih nesilica i tovnih pilića u razdoblju od 1993. do 1998. prikazani su na tablicama 1. i 2.

Tablica 1. - REZULTATI BRZE SERUMSKE AGLUTINACIJE NA PRISUTNOST PROTUTIJELA ZA *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* OD 1993. DO 1998.

Godina	Rasplodne nesilice	Tovni pilići
	pozitivno / pretraženo	pozitivno / pretraženo
1993	13 / 917 (1,4%)	0 / 244 (0%)
1994	14 / 1790 (0,7%)	0 / 211 (0%)
1995	19 / 1548 (1,2%)	1 / 589 (0,2%)
1996	3 / 2757 (0,1%)	0 / 31 (0%)
1997	12 / 749 (1,6%)	11 / 111 (9,9%)
1998	2 / 2595 (0,08%)	12 / 94 (12,8%)
Ukupno uzoraka	10356	1280

Tablica 2. - REZULTATI BRZE SERUMSKE AGLUTINACIJE NA PRISUTNOST PROTUTIJELA ZA *MYCOPLASMA SYNOVIAE* OD 1993. DO 1998.

Godina	Rasplodne nesilice	Tovni pilići
	pozitivno / pretraženo	pozitivno / pretraženo
1993	119 / 603 (19,7%)	9 / 227 (4,0%)
1994	411 / 1459 (28,2%)	49 / 201 (24,4%)
1995	324 / 1088 (29,7%)	79 / 359 (22,0%)
1996	NP*	NP*
1997	56 / 222 (25,2%)	0 / 53 (0%)
1998	312 / 2067 (15,1%)	7 / 84 (8,3%)
Ukupno uzoraka	5439	924

*NP - nije pretraženo

Razmatranje i zaključci

Budući da se vakcinacija protiv MG i MS u Republici Hrvatskoj tijekom istraživačkog razdoblja nije provodila, nalaz protutijela u krvnim serumima kokoši upućuje na terensku infekciju ovim mikroorganizmima. Tako je u razdoblju od 1993. do 1998. nađeno od 0,08% do najviše 1,6% rasplodnih nesilica inficiranih od MG. Nasuprot tomu, infekcija tovnih pilića ovim

mikroorganizmom nađena je u rasponu od 0% do čak 12,8%. Međutim, značajne razlike u zastupljenosti inficiranih rasplodnih nesilica i tovnih pilića u razdoblju od 1993. do 1996. nisu uočene. Budući da se MG širi i vertikalno i horizontalno (Kleven, 1997.) za očekivati je veću zastupljenost infekcije u potomaka no u roditelja. Stoga je u našem istraživanju nešto veću zastupljenost inficiranih rasplodnih nesilica (0,1 do 1,4%) od inficiranih tovnih pilića (0 do 0,2%) teško sa sigurnošću tumačiti. Moguće je da je dobiveni rezultat posljedica relativno malog uzorka tovnih pilića. Ne smije se zanemariti ni činjenica da se većina roditeljskih jata kokoši teških hibrida u Republici Hrvatskoj, nakon pozitivnog serološkog nalaza na MG, tretira antimikrobnim sredstvima, ponajprije tilozinskim preparatima te enrofloksacinom, čime se reducira vertikalni prijenos MG. Tijekom 1997. nađena je najveća zastupljenost rasplodnih nesilica inficiranih od MG (1,6%). Iste godine zastupljenost tovnih pilića inficiranih ovim mikroorganizmom doseže čak 9,9%. Naredne godine nalazimo svega 2 pozitivna od 2595 (tj. 0,08%) pretraženih uzoraka seruma rasplodnih nesilica dok broj inficiranih tovnih pilića raste na gotovo 13%. Uz već spomenutu činjenicu malog uzorka tovnih pilića (94) ovakovu pojavu može se tumačiti dvojako. Moguća je učestala horizontalna infekcija tovnih pilića tijekom 1998., ali je značajan i učestali uvoz "brojlerskih" rasplodnih jata, jednodnevnih te 4-5 tjednih tovnih pilića u Republiku Hrvatsku tijekom 1997. i 1998.

Nasuprot relativno niskoj zastupljenosti infekcije od MG, infekcija od MS u rasplodnih nesilica tijekom istraživanog razdoblja nađena je u rasponu od 15,1% do čak 29,7%. Istodobno, nađeno je i do 24,4% tovnih pilića inficiranih ovim mikroorganizmom. Slične rezultate zastupljenosti infekcije od MG i MS za razdoblje od 1990 do 1993. našli su i Nemanič i sur. (1994.). Moguće je zaključiti da znatno češću infekciju kokoši od MS u usporedbi s infekcijom od MG tumačimo epizootiološkim prilikama u Republici Hrvatskoj, ali i činjenicom da držaoci rasplodnih jata kokoši posvećuju znatno manju pažnju infekciji od MS no infekciji od MG. U prilog potonjoj pretpostavci govori i činjenica da je u istraživanom razdoblju dostavljeno upola manje uzoraka seruma rasplodnih nesilica na pretragu za MS (5439) negoli na pretragu za MG (10356). Slabijim uvidom u infekciju od MS nije moguće pravovremeno poduzeti preventivne i terapijske mjere za suzbijanje ove infekcije. Čini se da su, ipak, preventivne i terapijske mjere koje su bile usmjerene na suzbijanje infekcije od MG te donekle i na suzbijanje infekcije od MS utjecale na nešto rjeđu zastupljenost infekcije od MS u tovnih pilića no u rasplodnih nesilica. Ipak, zastupljenost infekcije tovnih pilića od MS daleko je veća od zastupljenosti infekcije od MG, što je i razumljivo s obzirom na daleko češću pojavu infekcije od MS u roditeljskim jatima.

Literatura

1. Bradbury, M. Janet (1993.): Taxonomy and general properties of the Mollicutes including candidate new species of Avian Origin. International Symposium "Advances in Avian Mycoplasma Research" 27-29. September 1993 g. Domžale, Slovenia. 1.1.
2. Bradbury, M. Janet (1998.): The key role of mycoplasmas in respiratory disease. Respiratory Disease Conference 9. November 1998 g. Hannover, Germany, str. 1.-8.
3. Dovč, P. (1993.): DNA analysis applied to Epizootiology of Avian Mycoplasma infections. International Symposium "Advances in Avian Mycoplasma Research" 27-29. September 1993. Domžale, Slovenia .3.3.
4. Jordan, F. T. W. (1990.): U Avian Mycoplasmoses. Poultry Diseases, Third edition 1990, Ed. F. T. W. Jordan 74.-85.
5. Kleven, S. H. (1993.): Vaccine Developments. International Symposium "Advances in Avian Mycoplasma Research" 27-29. September 1993. Domžale, Slovenia. 4.2.
6. Kleven, S. H. (1997.): Mycoplasma synoviae infection. U Diseases of Poultry Tenth edition 1997, Ed. B. W. Calnek, 9. str. 220.-228.
7. Ley, D. H., H. W. Jr. Yoder (1997.): Mycoplasma gallisepticum infection. U Diseases of Poultry Tenth edition 1997, Ed. B. W. Calnek, 194-207.
8. Mazija, H. (1994.): Iskorjenjivanje mikoplazmoze peradi - epizootiološka i gospodarska potreba Hrvatske. Zbornik Peradarski dani 5-7. Listopad 1994. Trakošćan, str. 37-44.
9. Naglič, T., Kristina Busch (1998.): Mikoplazmoze peradi. Spectrum, Svezak 5, Zagreb 1998.
10. Nemanič, Ankica, Marina Tišljar, V. Savić (1994.): Peradarska proizvodnja u Hrvatskoj - osvrt na zdravlje peradi u razdoblju 1990.-1994. godine. Zbornik Peradarski dani 5-7. Listopad 1994. Trakošćan, str. 11-19.
11. Razin, S., E. A. Freundt (1984.): The Mycoplasmas. U Bergy's manual of Systematic Bacteriology, Volume 1, Section 10, Ed. 1984., str. 740-793.
12. Stipkovits, L., I. Kempf (1996.): Mycoplasmoses in Poultry (Review). Bulletin de l'Office des Epizooties. 15(4). str. 1495-1525, 1996. Dec.
13. Yamamoto, R. (1993.): Prevention, Control and Eradication of Avian Mycoplasma Infections. International Symposium "Advances in Avian Mycoplasma Research" 27-29. September 1993. Domžale, Slovenia .4.3.

MYCOPLASMOSES IN HEAVY HYBRID HENS IN THE REPUBLIC OF CROATIA FROM 1993 TO 1998

Summary

The frequency of infection by varieties *Mycoplasma gallisepticum* (MG) and *M. synoviae* (MS) in hens of heavy hybrids was investigated in the Republic of Croatia from 1993 to 1994. By means of fast serum agglutination trial 11636 serum samples of hens were examined for the presence of antibodies for MG and 6366 samples for MS antibodies.

The frequency of MG infection found in breeding layers was from 0.08% to 12.8%. The high frequency of infection with this microorganism in fattening chickens in 1997 (9.9%) and in 1998 (12.8%) versus the previous years (0 to 0.2%) was possibly the result of frequent imports of breeding "broiler" eggs and one day and 4 to 5 weeks old fattening chickens. Contrary to low

frequency of MG infection in parent flocks, the MS infection was found ranging from 15.1% to as high as 29.7%. The reason for so much more frequent MS infection than MG (up to 24.3%) in both breeding and fattening flocks is probably the fact that breeding flocks keepers pay significantly less attention to MS infection than to MG infection. Therefore, with the aim of suppressing mycoplasmoses in hens in Croatia special attention should be paid not only to improving the hygiene and breeding but also to timely detecting MG and MS infection. A systematic program for eradicating mycoplasmoses is freeing pure lines and breeding grandparent and parent flocks of hens from infections with mycoplasmoses or importing such flocks. Besides methods for eradicating the infection, other measures can be taken such as use of immunoprophylactic measures or antimicrobial drugs.

It is particularly important to think of the control and quarantine conditions when importing hens and other poultry as well as eggs for incubation.

Key words: Mycoplasmosis, infection, hen, Croatia.

Primljeno: 15. 10. 1999.