

**Agnieszka Kędrak-Jabłońska, Ewelina Szacawa,
Sylwia Budniak, Krzysztof Szulowski**

Dział Bakteriologii i Chorób Bakteryjnych Zwierząt

Wyzwania diagnostyczne w wykrywaniu i identyfikacji niebezpiecznych patogenów



Puławy, 27.03.2026

Zespół 1 „Choroby wielogatunkowe zwierząt”

W laboratoriach 3 klasy bezpieczeństwa biologicznego (PCL3) zespół prowadzi diagnostykę chorób zakaźnych, takich jak:

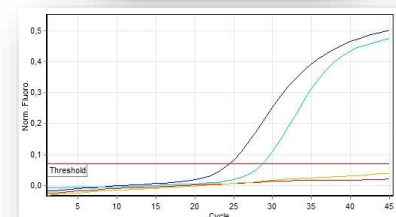
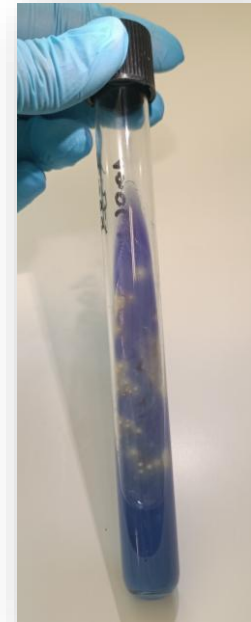
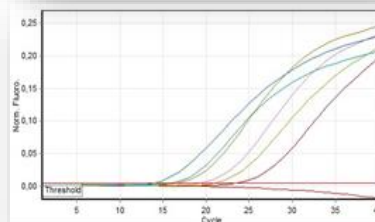
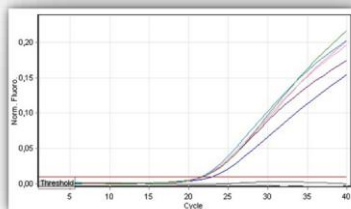
- ✓ bruceloza
- ✓ gruźlica
- ✓ nosacizna
- ✓ tularemia
- ✓ wąglik



Zespół 1 „Choroby wielogatunkowe zwierząt”

Zespół posiada kompetencje w zakresie diagnostyki bakteriologicznej i molekularnej w kierunku drobnoustrojów patogennych zarówno dla zwierząt, jak i ludzi:

- ✓ *Bacillus anthracis*
- ✓ *Brucella* spp.
- ✓ *Burkholderia mallei*
- ✓ *Francisella tularensis*
- ✓ *Mycobacterium tuberculosis* complex
- ✓ *Burkholderia pseudomallei*
- ✓ *Yersinia pestis*



Badania laboratoryjne

Laboratorium mikrobiologiczne – stopień 3 hermetyczności (PCL3):

- ✓ Lokalizacja i fizyczne zabezpieczenia (znak graficzny biologicznego zagrożenia, zlokalizowane z daleka od obszarów ogólnie dostępnych, oddzielone zamykanymi drzwiami, okno umożliwiające obserwację);
- ✓ Wentylacja i odprowadzanie powietrza (wentylacja umożliwiająca utrzymanie podciśnienia, system alarmowy wykrywający zmiany ciśnienia, filtry HEPA dla powietrza wychodzącego);
- ✓ Zapewnienie szczelności;
- ✓ Właściwe wyposażenie (komora bezpiecznej pracy, awaryjne źródło prądu);
- ✓ Środki ochrony indywidualnej (kombinezon ochronny, okulary ochronne, półmaski filtrujące FFP3, ochraniacze na buty, podwójne rękawiczki).



Melioidoza

Burkholderia pseudomallei

- ✓ Gram-ujemna pałeczka;
- ✓ Endemicznie występuje w regionach tropikalnych i subtropikalnych południowo-wschodniej Azji i północnej Australii;
- ✓ Występuje w środowisku – w glebie i wodzie;
- ✓ Powoduje zachorowania zwierząt wolno żyjących, zwierząt hodowlanych, a także ludzi;
- ✓ Melioidoza u zwierząt:
 - zmiany mają postać guzków, które mogą ropieć i tworzą się w różnych tkankach, w tym w mózgu;
 - większość infekcji ma charakter przewlekły, ale może wystąpić ostra postać posocznicowa.



Melioidoza

Burkholderia pseudomallei

- ✓ Melioidoza u ludzi:
- postać skórna – ropnie w miejscu uszkodzenia skóry, zapalenie tkanki łącznej, powiększenie węzłów chłonnych;
 - zapalenie płuc i ropnie płuc;
 - postać posocznicowa – niewydolność oddechowa, zmiany ropne na skórze, w ośrodkowym układzie nerwowym i w narządach wewnętrznych, śmierć następuje w ciągu 24-48 godzin;
 - postać przewlekła – wieloletni przebieg, objawy przypominające gruźlicę, z zapaleniem płuc, tworzeniem się ropni w narządach wewnętrznych, mięśniach i skórze;
 - choroba o ciężkim przebiegu, w której śmiertelność w zależności od postaci klinicznej waha się od 10-40%, do 90% w postaci posocznicowej.



Melioidoza

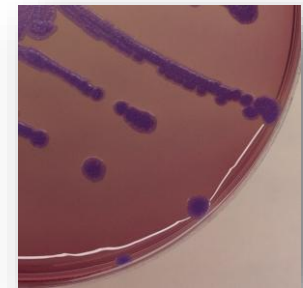
Badanie hodowlane *Burkholderia pseudomallei*

Izolacja:

- ✓ hodowla na agarze z 5% krwią końską,
- ✓ hodowla na agarze MacConkey,
- ✓ hodowla na agarze czekoladowym Columbia,
- ✓ hodowla na agarze Ashdown.

Identyfikacja:

- ✓ barwienie metodą Grama – małe Gram-ujemne pałeczki,
- ✓ test na katalazę i oksydazę – dodatni,
- ✓ test biochemiczny API 20NE.



Melioidoza

Metody molekularne *Burkholderia pseudomallei*

Reakcje real-time PCR pozwalające na wykrywanie genów:

- ✓ ***flipP*** specyficznego dla szczepów *B. mallei*;
- ✓ ***orf11*** specyficznego dla szczepów *B. pseudomallei*;
- ✓ ***orf13*** specyficznego dla szczepów *B. mallei* i *B. pseudomallei*;
- ✓ ***BpSCU2*** specyficznego dla szczepów *B. pseudomallei*, *B. mallei*, *B. thailandensis*;
- ✓ ***aroA*** specyficznego dla szczepów *B. pseudomallei* complex tj. *B. mallei*, *B. pseudomallei*, *B. thailandensis*, *B. oklahomensis* oraz *B. humptydoosis*

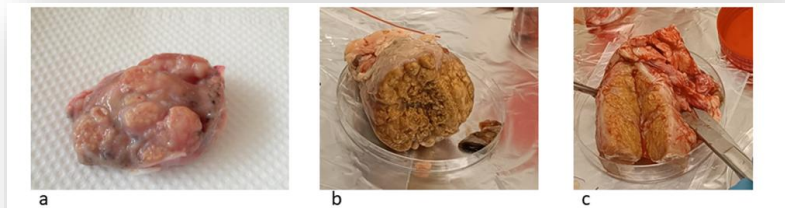


Gruźlica bydłęca

Mycobacterium tuberculosis complex

- ✓ Gram-dodatnie pałeczki (prątki);
- ✓ Bakterie tlenowe, kwasooporne;
- ✓ Wzrost jest bardzo powolny (3–6 tygodni);
- ✓ Prątki z grupy MTBC wywołują gruźlicę zarówno zwierząt, jak i ludzi - to przewlekła choroba bakteryjna, która często długo nie daje widocznych objawów;
- ✓ Najczęstsze objawy u bydła: przewlekły, suchy kaszel, chudnięcie i wyniszczenie, duszności, powiększenie węzłów chłonnych;
- ✓ Najczęstsze objawy u ludzi: długotrwały kaszel, gorączka i nocne poty, chudnięcie i brak apetytu, bóle w klatce piersiowej, duszności, krwioplucie;
- ✓ Do kompleksu MTBC zaliczamy 11 gatunków prątków:

- | | |
|----------------------------|-----------------------|
| - <i>M. tuberculosis</i> ; | - <i>M. microti</i> |
| - <i>M. bovis</i> ; | - <i>M. orygis</i> |
| - <i>M. caprae</i> ; | - <i>M. canettii</i> |
| - <i>M. bovis</i> BCG; | - <i>M. suricatte</i> |
| - <i>M. africanum</i> ; | - <i>M. mungi</i> |
| - <i>M. pinnipedii</i> | |



Ryc. 1. Typowe zmiany anatomopatologiczne w trzech różnych węzłach chłonnych bydła (A, B, C). W tkance widoczne są serowaciejące zmiany z gruzełkami.

Gruźlica bydłęca

Izolacja i identyfikacja prątków *Mycobacterium tuberculosis* complex

W 2025 r. - wprowadzenie testów molekularnych GenoType MTBC (HAIN Lifescience) w celu zastąpienia nimi próby biologicznej, którą stosowano w laboratorium przez przeszło 70 lat.

Etapy badania przed zmianą procedury:

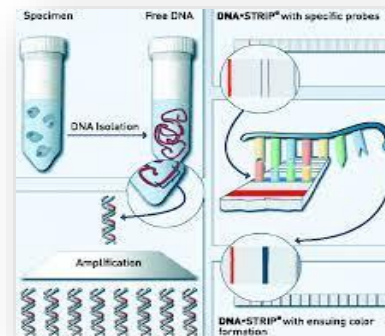
1. Wstępne badanie anatomopatologiczne
2. Badanie mikroskopowe
3. Badanie hodowlane
4. **Badanie biologiczne na zwierzętach laboratoryjnych (2 kawiach domowych)**



Ryc. 3. źródło: https://pl.freepik.com/search?format=search&last_filter=query&last_value=kawia+porcellus+albinosy&query=kawia+porcellus+albinosy

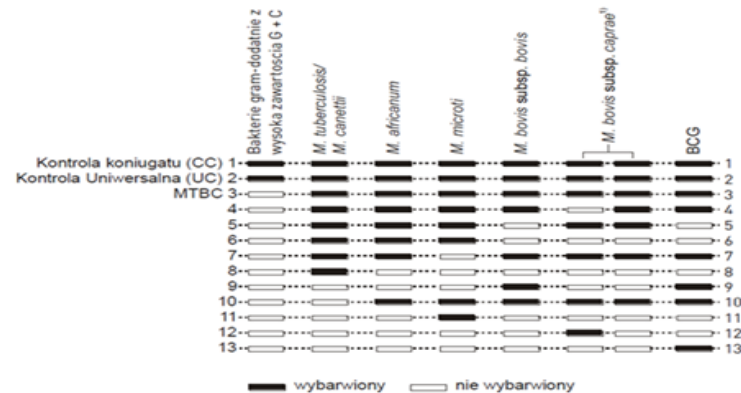
Etapy badania po weryfikacji procedury:

1. Wstępne badanie anatomopatologiczne
2. Badanie mikroskopowe
3. Badanie hodowlane
4. **Identyfikacja bakterii MTBC przy użyciu techniki PCR z materiału genetycznego z kolonii bakteryjnych wraz z ich różnicowaniem**



Gruźlica bydłęca

Izolacja i identyfikacja prątków
Mycobacterium tuberculosis complex umożliwia



- ✓ **Rutynową izolację i identyfikację prątków tzw. bydłęcych** tj. *M. bovis* i *M. caprae*;
- ✓ Zastosowanie testów molekularnych umożliwia również identyfikację pozostałych gatunków należących do kompleksu MTBC (*M. tuberculosis*, *M. microti*, *M. africanum*, *M. canettii* oraz szczepu szczepionkowego *M. bovis* BCG);
- ✓ **Ulepszone parametry jakościowe:** wyższa czułość i specyficzność testu molekularnego w porównaniu ze stosowaniem próby biologicznej;
- ✓ **Znacząca redukcja kosztów:** wdrożenie etapu identyfikacji molekularnej obniżyło cenę badania;
- ✓ **Wyjście naprzeciw potrzebom inspekcji weterynaryjnej i klientów prywatnych** - innowacyjna technika badawcza umożliwia zarówno izolację jak i gatunkową identyfikację badanych drobnoustrojów.

Dziękuję za uwagę



www.piwet.pulawy.pl