PIWet

Państwowy Instytut Weterynaryjny
- Państwowy Instytut Badawczy

# Nieinwazyjny monitoring środowiska

## (ksenomonitoring) z użyciem latających strzykawek

dr hab. Magdalena Larska

Sobieszewo, 18.09.2026

KASZUBSKO POMORSKA KONFERENCJA NAUKOWA ONE HEALTH

# Ksenomonitoring

## Bioindykacja obecności patogenów z wykorzystaniem organizmów pośredniczących

### 1 Środowisko i gospodarze

Patogen krąży w populacji ludzi, zwierząt i/lub w środowisku.

### 2 Organizmy pośredniczące

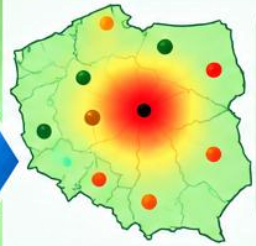
Badamy organizmy pobierające materiał od gospodarzy lub ze środowiska.

### 3 Wykrywanie patogenów

Analiza metodami molekularnymi: PCR / qPCR / RT-PCR.

### 4 Wnioski i zastosowanie

Wyniki wskazują na krążenie patogenu oraz wspierają ocenę ryzyka i nadzór One Health.



Wykrycie patogenu w organizmach pośredniczących

- wysokie ryzyko
- umiarkowane ryzyko
- niskie ryzyko
- brak wykrycia

**Zastosowania**

- Wczesne ostrzeżanie
- Ocena ryzyka
- Wsparcie nadzoru One Health
- Planowanie działań prewencyjnych

**Małe organizmy – duże informacje**

# Owad na smyczy – wykorzystanie owadów w badaniach klinicznych

## Wykorzystanie krwiopijnych pluskwiaków do pobierania próbek krwi od zwierząt egzotycznych

**Andrzej G. Kruszewicz[1], Pierre Grothmann[2], Agnieszka Czujkowska[1], André Stadler[3], Arne Lawrenz[3], Günter Schaub[4]**

z Miejskiego Ogrodu Zoologicznego w Warszawie[1] oraz Zoologischer Garten Magdeburg (Niemcy)[2], Zoologischer Garten Wuppertal (Niemcy)[3] i Ruhr Universität Bochum (Niemcy)[4]

**Use of kissing bugs for blood sampling of exotic animals**

**Kruszewicz A.[1], Grothmann P.[2], Czujkowska A.[1], Stadler A.[3], Lawrenz A.[3], Schaub G.[4]**, Warsaw Zoological Garden[1], Magdeburg Zoological Garden (Germany)[2], Wuppertal Zoological Garden (Germany)[3], Ruhr University Bochum (Germany)[4]

Use of kissing bugs (Reduviidae, Triatominae) is an alternative, safe, secure and very promising method of blood drawing that can be used in various, exotic animal species like terns, bats, giraffes, tapirs and

**Ryc. 1.** Dwutlenek węgla w wydychanym powietrzu oraz ciepło ręki pobudzają pluskwiaka znajdującego się w pojemniku do żerowania (fot. P.G)

**Ryc. 2.** Specjalna konstrukcja umożliwiająca na nieniepokojące żyrafę umieszczenie pluskwiaka na jej skórze (fot. P.G).

# Wektory – stawonogi krwiopijne wykorzystywane w monitoringu

## Wektory biologiczne

Najniebezpieczniejsze to: *Aedes aegypti i Ae. albopictus*

- Wirusy :

Chikungunya;

Dengue;

Japońskiego zapalenia mózgu;

Malaria;

Gorączki doliny Rift;

Zachodniego Nilu;

Gorączki Sindbis;

Żółtej gorączki;

Zika

TBEV,

wirus gorączki krymsko-kongijskiej,

ASFV;

*Babsesia* spp.,

*Teileria* spp.,
*Richettsia* spp.,

Anaplasma spp.,

*Francisella tularensis*,

*Coxiella burnetii*,

*Borrelia* spp.

Ponad 50 wirusów, w tym:

Wirus Oropuche,

Akabane, Schmallenberg (SBV),

Wirus niebieskiego języka (BTV), wirus afrykańskiego pomoru koni (AHSV)

Bąkowate (Tabanidae), strzyżaki (*Lipoptena cervi*, L. *fortisetosa)*

*Bartonella* spp.

*Anaplasma phagocytophilum*

*Rickettsia* spp.

*Borrelia burgdorferi*

# Wirusy przenoszone przez wektory owadzie

## *Culicoides* spp. zwane kuczmanami

Transboundary and Emerging Diseases

Transboundary and Emerging Diseases

RAPID COMMUNICATION

**First report of Schmallenberg Virus Infection in Cattle and Midges in Poland**

M. Larska[1], M. P. Polak[1], M. Grochowska[2], L. Lechowski[2], J. S. Związek[3] and J. F. Żmudziński[1]

[1] Department of Virology, National Veterinary Research Institute, Puławy, Poland
[2] Department of Zoology, Maria Curie-Skłodowska University, Lublin, Poland
[3] Chief Veterinary Officer, General Veterinary Inspectorate, Warsaw, Poland

Samice *Culicoides obsoletus*: A – dziewicza; B - po posiłku z krwi; C – przed składką jaj; D – pigmentowana.

Te niewielkie (około 1 mm) owady żerują między zachodem a wschodem słońca. Tylko samice pobierają krew w celu złożenia jaj i przechodzą 2-3 cykle rozrodcze w ciągu swojego życia. Gatunki kuczmanów są rozróżniane na podstawie wzoru błonek na skrzydłach.

# Monitoring SBV

Monitoring zakażeń SBV

- Aktywny serologiczny
  - Badanie przesiewowe bydła i przeżuwaczy z terenu całej Polski → Badania próbek surowicy pochodzących z jednej tury próbkobrania monitoringu BTV w kraju; Określenie rozprzestrzenienia wirusa; analiza czynników ryzyka
  - Badanie sentineli → Badania zwierząt w wieku 6 – 12 mies; Określenie możliwości krążenia wirusa w danym roku
- Bierny dotyczący przypadków klinicznych → Określanie patogenności szczepów terenowych i powstawania potencjalnie nowych wariantów
- Analiza zmienności wirusa → Określanie patogenności szczepów terenowych i powstawania potencjalnie nowych wariantów
- Aktywny badania kuczmanów
  - Samice, *Culicoides obsoletus/scoticus, C. punctatus, C. pulicaris* → Rozprzestrzenianie się zakażeń SBV; wczesne ostrzeganie o nowej fali epizootii (DIM >1)
  - Samice nulliparous, samce → Możliwość transmisji transowarialnej; Krążenie wirusa w populacji kuczmanów; przezimowanie wirusa na tym samym terenie bezudziału rezerwuaru?
- Monitoring nasienia buhajów
- Bierny przeżuwaczy dzikich → Badania serologiczne jeleniowatych i żubrów , od których próbki pozyskano w ramach innych aktywności; badania wirusologiczne przypadków klinicznych

Analiza dynamiki szerzenia się SBV

Analiza alternatywnych dróg szerzenia się SBV

PIWet

# Wirus Schmallenberg - SBV

RESEARCH COMMENT

## Schmallenberg virus: a cyclical problem

Magdalena Larska

WHETHER Schmallenberg virus (SBV) is a serious threat to ruminant breeding in Europe or is just another of the transboundary and emerging pathogens becoming popular recently due to changes in climate, political situations or scientific approaches remains under debate. The virus was first identified from outbreaks of rather mild disease in cattle in Schmallenberg (hence the name) in Germany in 2011.[1] Later, it was determined that the virus is transmitted by blood-feeding midges, just like bluetongue virus, which had emerged in the same region of Europe some four years earlier.

SBV is an equivalent of Akabane virus, which is found in tropical areas of Asia and Australia and, like SBV, causes reproductive failure and affects mostly newborn ruminants.

The spread of SBV in Europe was dramatically fast and seroprevalence reached 100 per cent in many areas by 2012. There are many hypotheses about how the virus managed to overwinter. Although many European countries took action in terms of introducing new regulations that would allow control of this new threat, in the face of such rapid transmission and the risk of high economic losses as a consequence of any ban on trade, most did not enforce any restrictive measures.

Since SBV infections are not notifiable, the impact on ruminant breeding is difficult to establish due to under-reporting, under-detection and (despite the initial commotion surrounding the discovery of SBV) relatively low scientific interest. Most likely, one of the key factors responsible for the differing perceptions of the impact of SBV is the importance of sheep farming in different countries. While the infection rate in cattle is high, observed malformations of bovine newborns (and hence losses) resulting from in utero SBV infection are very low.[2] Conversely, while the incidence of SBV infection in sheep was usually reported to be much lower,[3–5] up to 50 per cent of lambs may be lost due to infection in a flock.[6–9]

A rapid increase in population immunity against SBV and the introduction of newly developed vaccines caused a gradual decline of the epidemic between 2013 and 2015.[10,11] During this interval, limited or no SBV circulation was observed;[11–13] however, as discussed previously by De Regge,[14] the re-emergence of SBV was expected as the number of naïve ruminants increased. And so, in some countries in continental Europe, another wave of SBV epidemics was observed in 2016.[15–17]

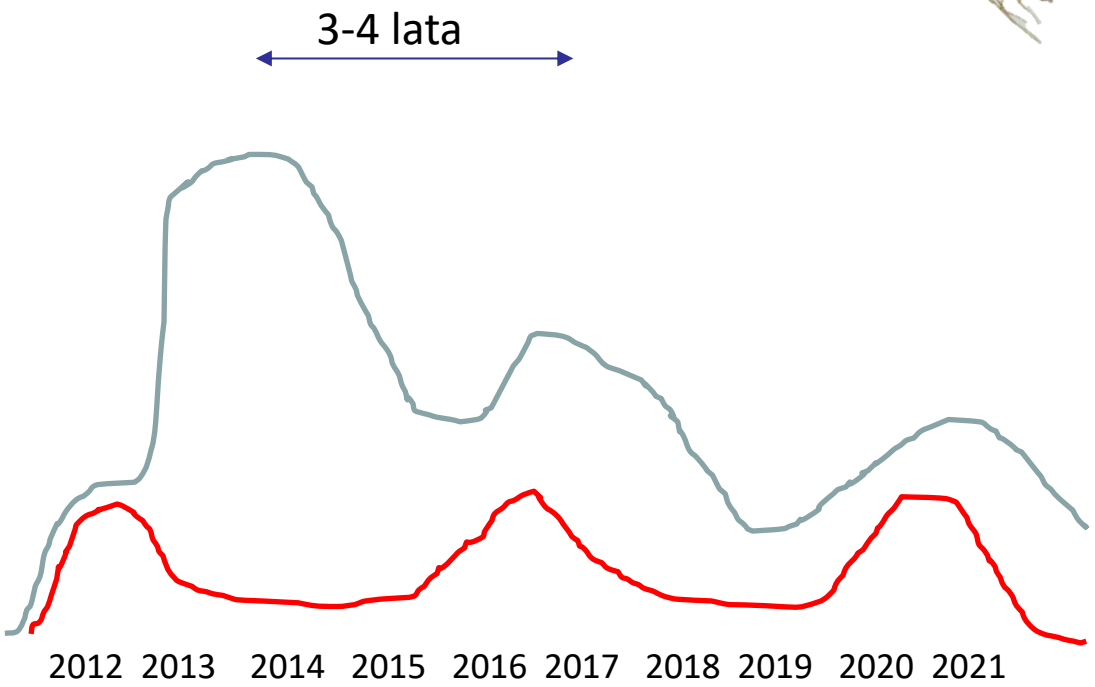
**WHAT YOU NEED TO KNOW**

- After the initial epidemic of 2011/12, Schmallenberg virus (SBV) began circulating again in Europe in 2016/17.
- SBV re-emergence should be expected every three to five years, unless measures to control the infection are taken.
- SBV infections in sheep cause significant lamb mortality and other associated reproductive disorders.

The severity of clinical signs of Schmallenberg virus infection varies greatly; however, the highest losses due to newborn mortality are seen in sheep



Veterinary Record: first published as 10.1136/vr.k5109 on 6 December 2018. Downloaded from http://veterinaryrecord.bmj.com/ on 17 December 2018 by guest. Protected by copyright.



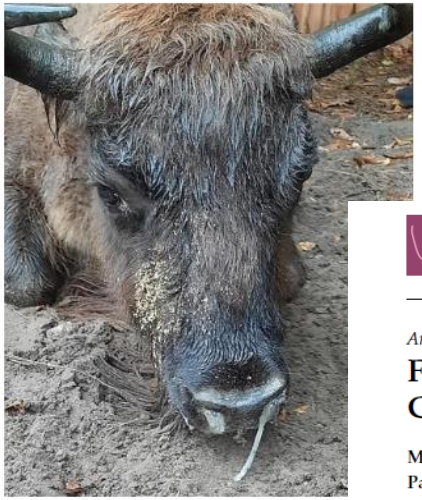

**Seroprewalencja / odporność populacyjna**

**Obecność wirusa w kuczmanach, identyfikacja wiremii u dorosłych zwierząt, wzrost przypadków klinicznych**

# Pierwszy przypadek BTV-3 w Polsce październik 2024 r.

(a)

(b)



(c)

*pathogens*

MDPI

*Article*

**First Detection of Bluetongue Virus Type 3 in Poland in 2024—A Case Study in European Bison (*Bison bonasus*)**

Magdalena Larska [1,*], Anna Orłowska [1], Wojciech Łopuszyński [2], Łukasz Skurka [1], Agnieszka Nowakowska [1], Paweł Trębas [1], Michał K. Krzysiak [2,3], Jerzy Rola [1] and Marcin Smreczak [1,*]

(d)

SPAIN >

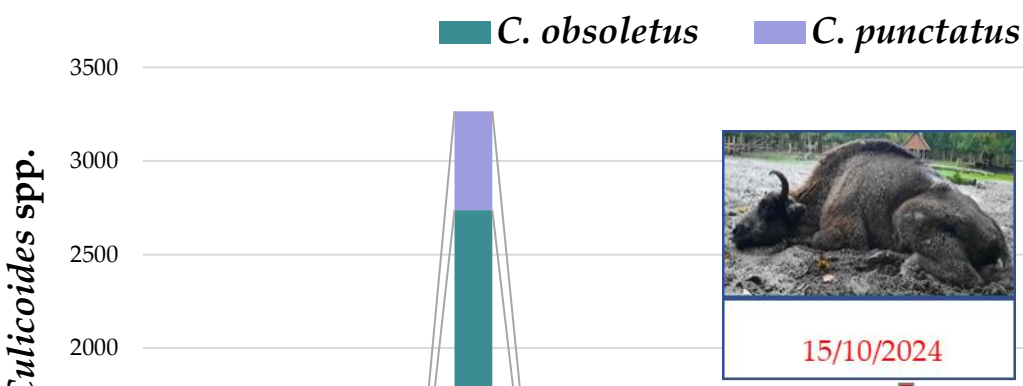
# ‘Cow Covid’ threatens livestock ranches

Epizootic Hemorrhagic Disease (EHD) has killed hundreds of cattle in Europe after being detected in November 2022

*Mapa 1: Focos de EHE en España en años 2022 y 2023*

Dos posibles casos de EHE localizados en Extremadura. © JyS

# Monitoring kuczmanów *Culicoides* spp. w WPN w 2024 r.



# Badania aktywności kuczmanów, potencjalnych żywicieli i potencjalnych wrogów

Stwierdziliśmy:

- obecność nowych potencjalnych gatunków *Culicoides* spp. będących wektorami SBV
- sezon aktywności owadów był wydłużony
- możliwość transowarialniej transmisji SBV u kuczmanów
- liczebność kuczmanów w środowisku naturalnym była wielokrotnie wyższa niż w środowisku bytowania zwierząt gospodarskich
- badania gatunkowości w krwi z odwłoka (drogi transmisji)
- identyfikacja patogenów i endosymbiontów owadów – potencjalne modele do redukcji populacji owadów

Veterinary Microbiology 166 (2013) 467–473

Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Microbiology

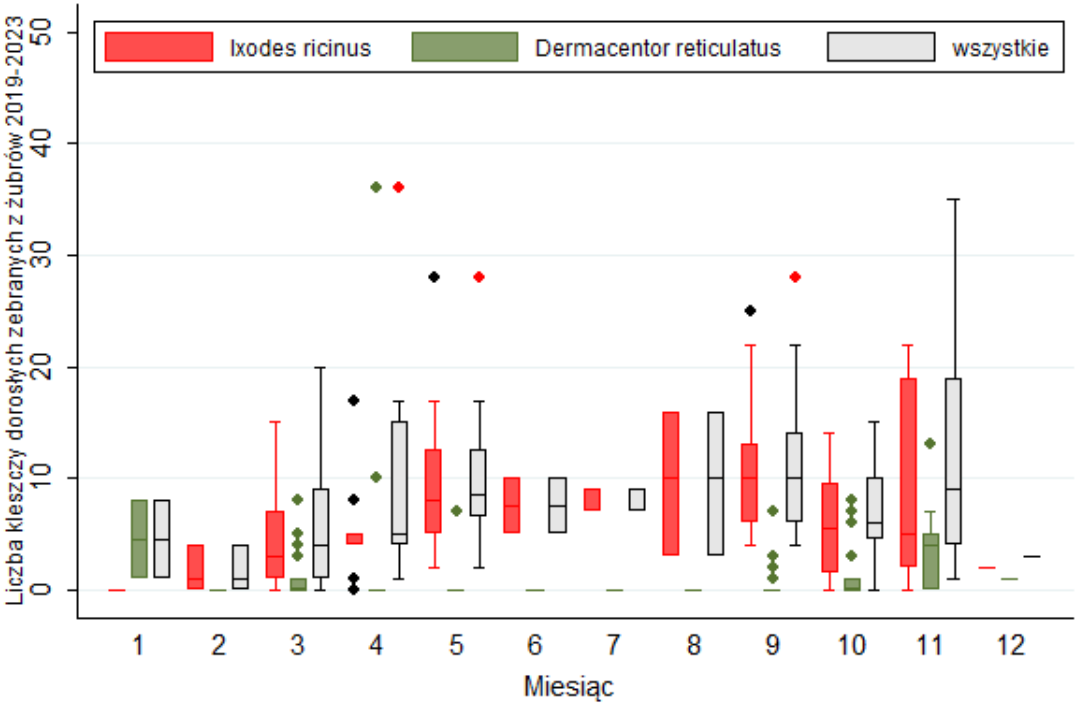
journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetmic

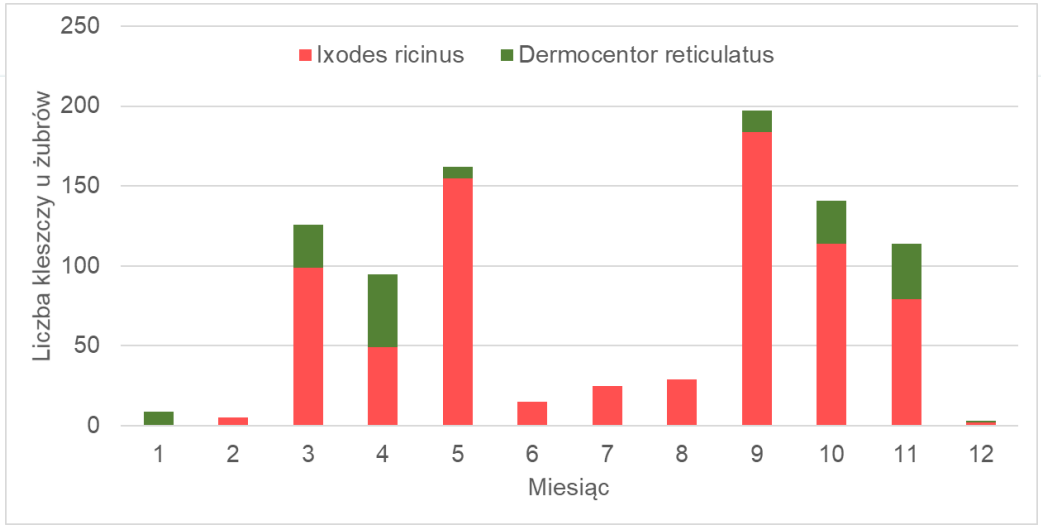
Detection of the Schmallenberg virus in nulliparous *Culicoides obsoletus/scoticus* complex and *C. punctatus*—The possibility of transovarial virus transmission in the midge population and of a new vector

Magdalena Larska [a,*], Lech Lechowski [b], Maria Grochowska [b], Jan F. Żmudziński [a]

| *Culicoides* spp. | $n^a$ | %[b] | $n^a$ | %[b] |
|---|---|---|---|---|
| *C. achrayi* | 214,303 | 58.9 | 64,456 | 38.5 |
| *C. chiopterus*[c] | 426 | <0.1 | 6 | <0.1 |
| *C. circumscriptus* | 121 | <0.1 | 17 | <0.1 |
| *C. deltus* | 413 | <0.1 | 51 | <0.1 |
| *C. dewulfi*[c] | 2 | <0.1 | 2 | <0.1 |
| *C. fascipennis* | 124 | <0.1 | 37 | <0.1 |
| *C. impunctatus* | 267 | <0.1 | 0 | 0 |
| *C. newsteadi* | 50 | <0.1 | 5 | <0.1 |
| *C. obsoletus/scoticus complex*[c] | 85,048 | 23.4 | 63,239 | 37.8 |
| *C. odibilis* | 0 | <0.1 | 29 | <0.1 |
| *C. pallidicornis* | 9 | <0.1 | 134 | 0.1 |
| *C. pictipenis* | 5 | <0.1 | 0 | 0 |
| *C. pulicaris*[c] | 442 | <0.1 | 5 | <0.1 |
| *C. punctatus*[c] | 58,262 | 16.0 | 39,106 | 23.4 |
| *C. reconditus* | 3 | <0.1 | 6 | <0.1 |
| *C. salinarius* | 31 | <0.1 | 139 | 0.1 |
| *C. sengis* | 0 | 0 | 2 | <0.1 |
| *C. subfascipennis*[c] | 0 | 0 | 12 | <0.1 |
| *Culicoides* (species not identified) | 4,229 | 1.2 | 22 | <0.1 |
| Total | 363,735 | 100 | 167,268 | 100 |

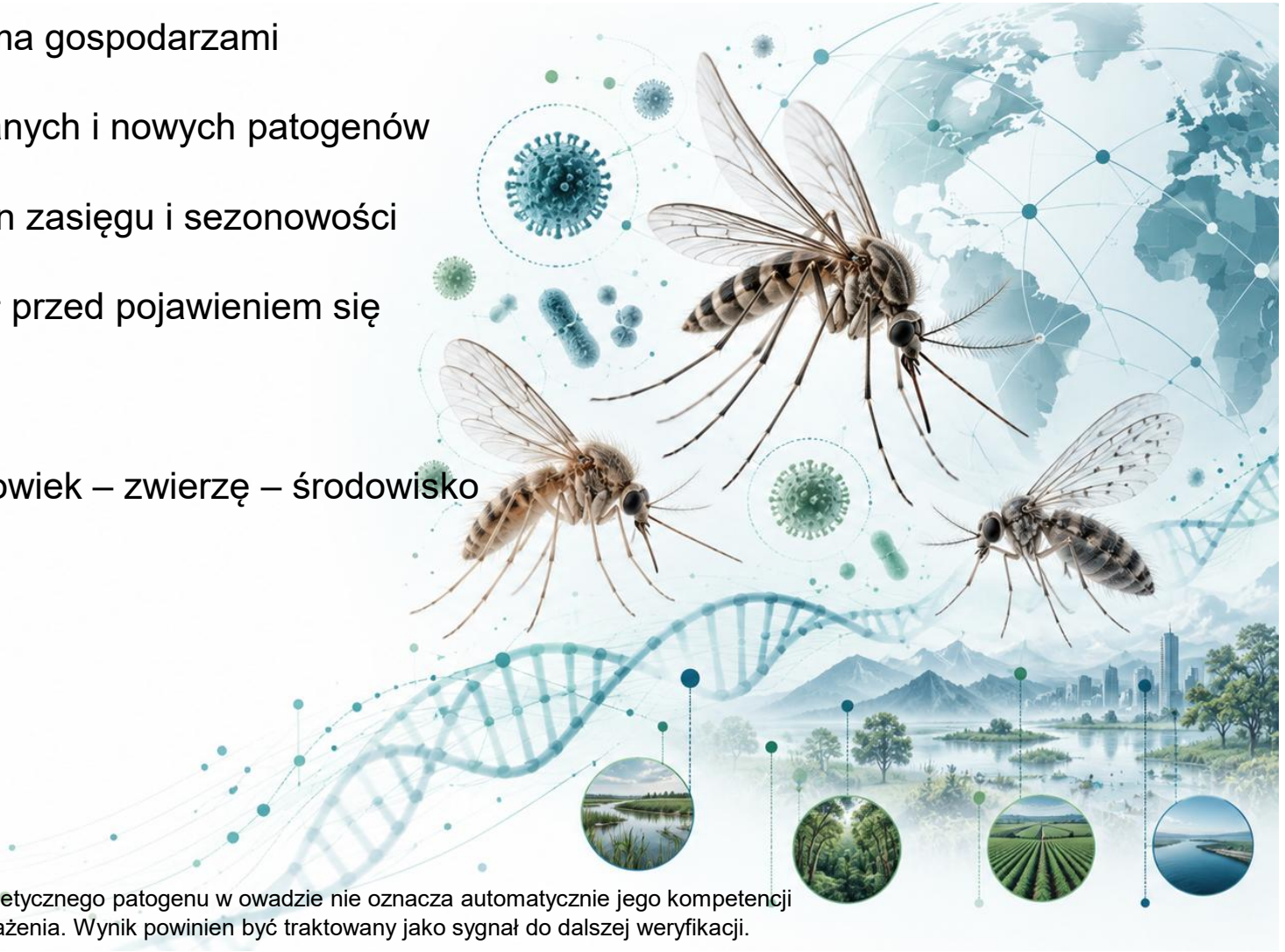
# Analiza aktywności kleszczy żerujących na żubrach



# Wykryj wcześnie, śledź i reaguj szybciej – podejście metagenomiczne

- Naturalne biosensory środowiska
- Kontakt z wieloma gospodarzami
- Wykrywanie znanych i nowych patogenów
- Monitoring zmian zasięgu i sezonowości
- Wczesny sygnał przed pojawieniem się ognisk
- One Health: człowiek – zwierzę – środowisko



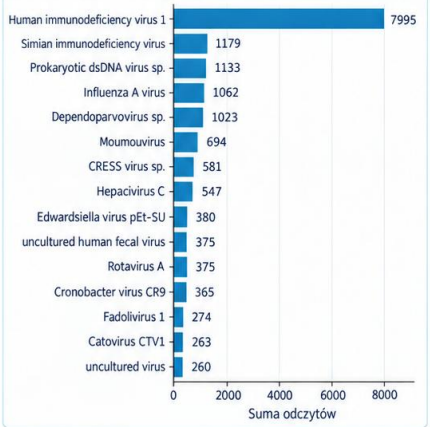
Ważne: wykrycie materiału genetycznego patogenu w owadzie nie oznacza automatycznie jego kompetencji wektorowej ani aktywnego zakażenia. Wynik powinien być traktowany jako sygnał do dalszej weryfikacji.

# Metagenom wirusowy *Culicoides*

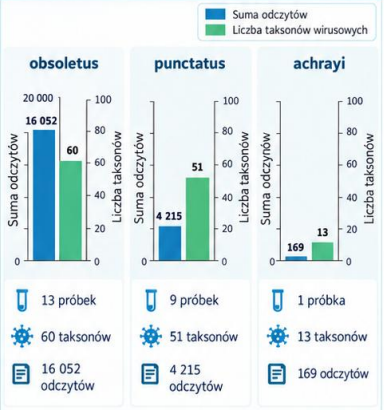
Podsumowanie przypisań taksonomicznych Kraken2 po odfiltrowaniu fagów

**23** próbki | **3** gatunki | **86** wykrytych taksonów wirusowych | **20 436** odczytów łącznie

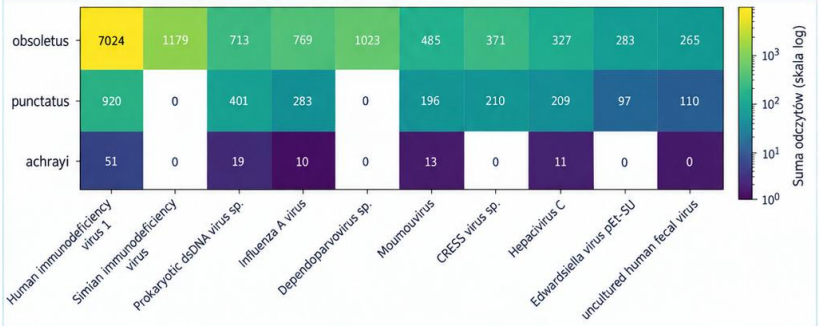
## Najczęściej wykrywane taksony




## Porównanie gatunków *Culicoides*




## Top 10 taksonów wirusowych w gatunkach *Culicoides*



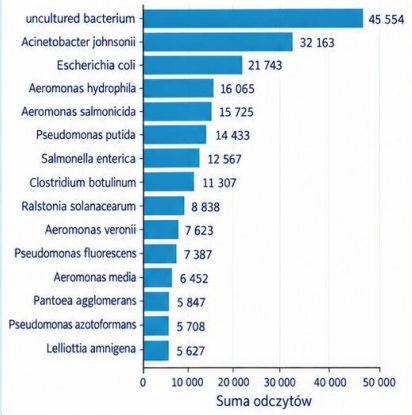

**Uwaga:** rycina przedstawia przypisania taksonomiczne uzyskane metodą Kraken2 po odfiltrowaniu fagów; obecność odczytów nie oznacza potwierdzenia biologicznego zakażenia.

# Metagenom bakteryjny *Culicoides*

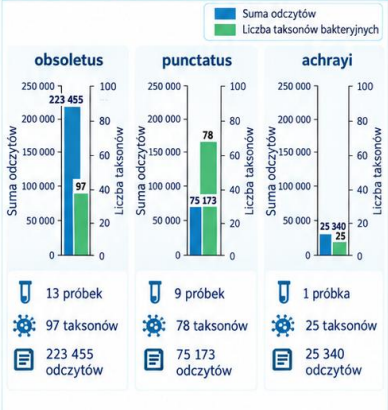
Podsumowanie przypisań taksonomicznych Kraken2

**23** próbki | **3** gatunki | **140** wykrytych taksonów bakteryjnych | **323 968** odczytów łącznie

## Najczęściej wykrywane taksony




## Porównanie gatunków *Culicoides*




## Top 10 taksonów bakteryjnych w gatunkach *Culicoides*

**Uwaga:** rycina przedstawia przypisania taksonomiczne uzyskane metodą Kraken2; obecność odczytów nie oznacza potwierdzenia biologicznego zakażenia.

*Analiza wyników rozprawy doktorskiej dr Katarzyny Krasoń pt. Badanie mikrobiomu i wiromu rodzimych gatunków Culicoides spp.*

# Metagenom pasożytniczych protistów *Culicoides*

Podsumowanie przypisań taksonomicznych Kraken2

*Culicoides sp.*

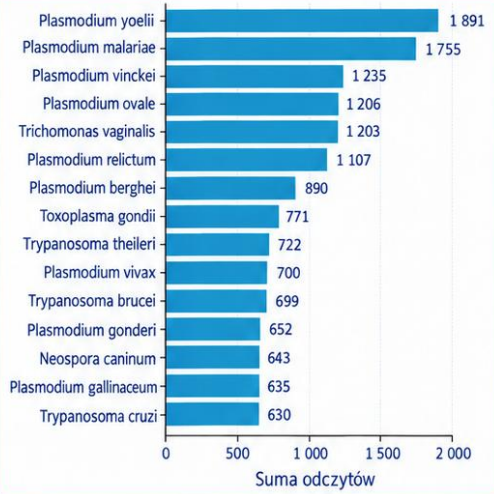
**14** próbek

**3** gatunki

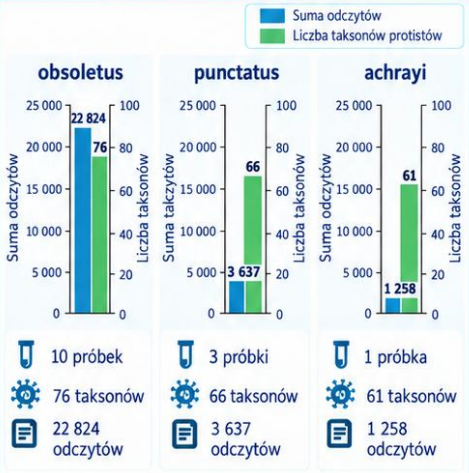
**81** wykrytych taksonów pasożytniczych protistów

**27 719** odczytów łącznie

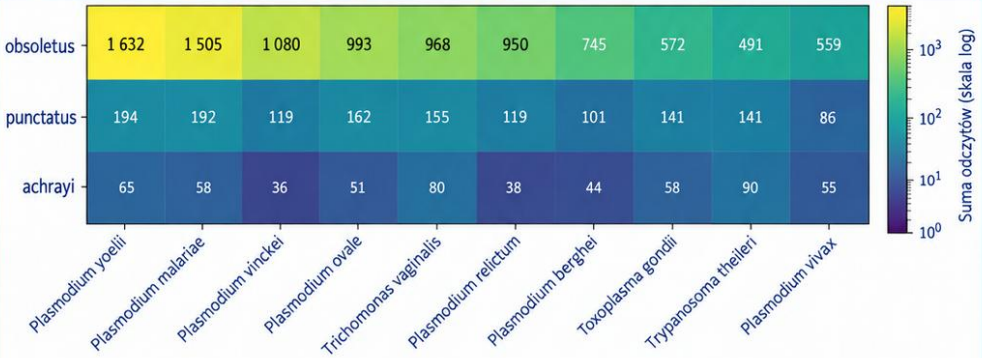
## Najczęściej wykrywane taksony




## Porównanie gatunków *Culicoides*




## Top 10 taksonów pasożytniczych protistów w gatunkach *Culicoides*

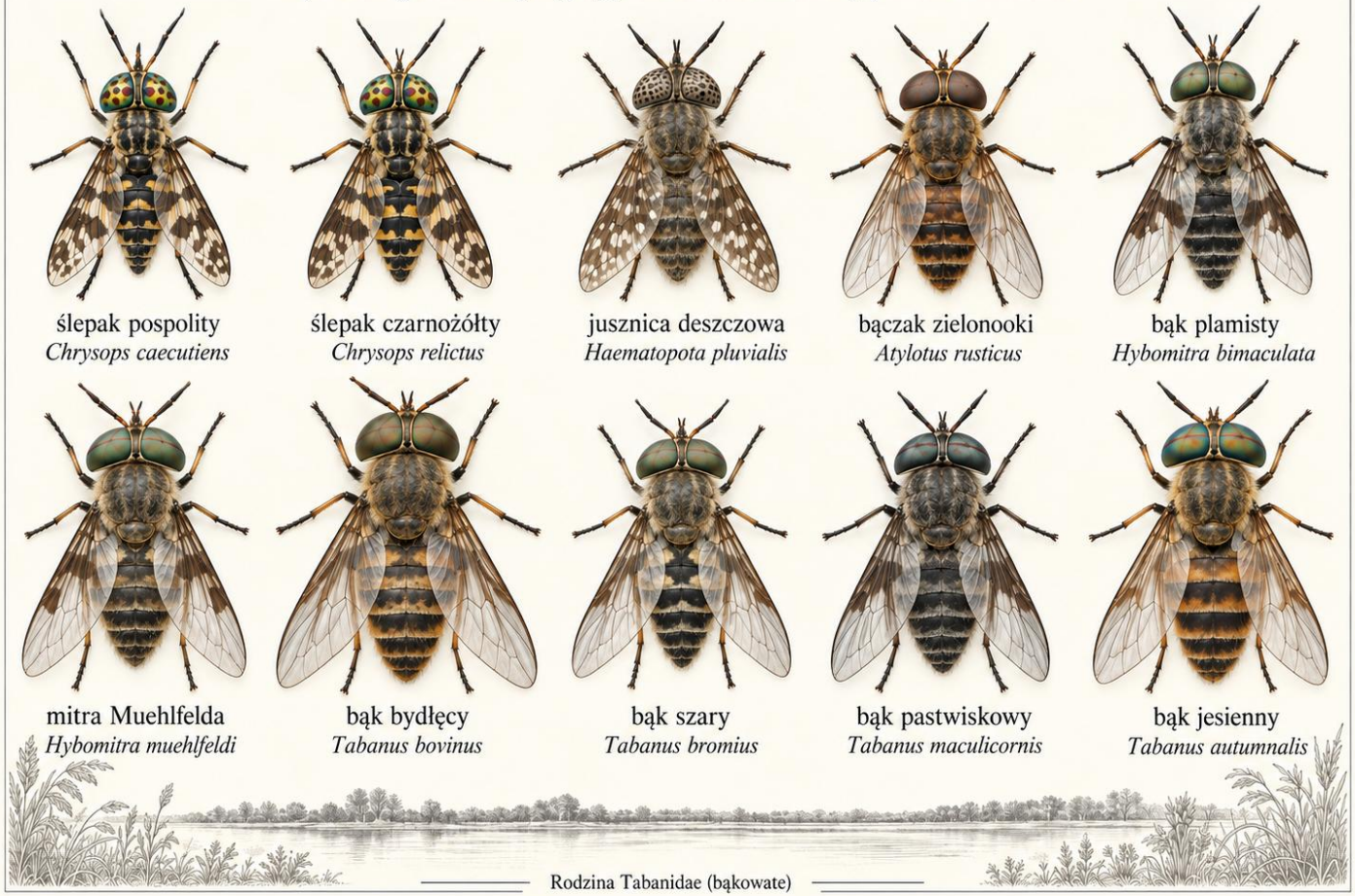



**Uwaga:** rycina przedstawia przypisania taksonomiczne uzyskane metodą Kraken2 dla wybranych pasożytniczych protistów na poziomie gatunku; obecność odczytów nie oznacza potwierdzenia biologicznego zakażenia.

# Czy wielkość się liczy?

## Tabanidae w Polsce

Wybrane gatunki występujące w Polsce – nazwy polskie i łacińskie

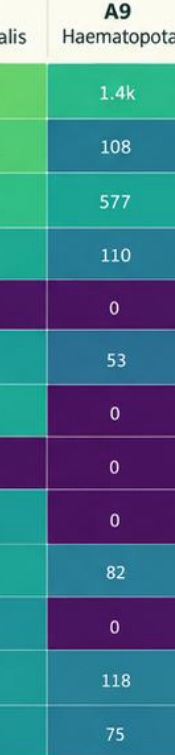


82F 28C 20/08/2024 17:09:13

# Kandydackie przypisania gatunków wirusów

Top 15 po wyłączeniu oczywistych bakteriofagów; porównanie wg owada i miejsca pochodzenia

| Taksony na poziomie gatunku | Białowieża | | | Pszczyna | | Puszcza Knyszyńska | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A1 Haematopota | A2 Tabanus | A3 Chrysops | A4 Haematopota | A5 Tabanus | A6 *H. scutellata* | A7 H. hispanica | A8 H. pluvialis | A9 Haematopota |
| *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus* | 20.7k | 1.9k | 7.2k | 44.6k | 6.4k | 9.2k | 6.7k | 4.6k | 1.4k |
| *Cytomegalovirus humanbeta5* | 11.5k | 205 | 0 | 27.6k | 0 | 6.8k | 5.1k | 3.3k | 108 |
| *Human immunodeficiency virus 1* | 7.0k | 2.9k | 1.9k | 8.3k | 4.4k | 3.7k | 2.7k | 2.5k | 577 |
| *Alphainfluenzavirus influenzae* | 2.4k | 466 | 710 | 2.6k | 2.1k | 1.1k | 595 | 775 | 110 |
| *Varnsen partiti-like virus* | 0 | 0 | 10.1k | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Simian immunodeficiency virus* | 2.5k | 314 | 382 | 3.4k | 746 | 878 | 527 | 390 | 53 |
| *Cotesia sesamiae bracovirus* | 2.2k | 258 | 91 | 2.0k | 676 | 770 | 813 | 517 | 0 |
| *Gammanudivirus cameanadis* | 0 | 4.5k | 37 | 0 | 800 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Subterranean clover mottle virus* | 1.5k | 0 | 0 | 1.3k | 0 | 610 | 533 | 326 | 0 |
| *Hepacivirus hominis* | 705 | 461 | 291 | 786 | 588 | 450 | 419 | 355 | 82 |
| *African swine fever virus* | 894 | 143 | 178 | 1.4k | 326 | 424 | 264 | 219 | 0 |
| *Rotavirus A* | 651 | 251 | 227 | 606 | 928 | 355 | 238 | 241 | 118 |
| *Torque teno midi virus* | 927 | 311 | 172 | 597 | 464 | 395 | 349 | 211 | 75 |
| *Bracoviriform facetosae* | 553 | 0 | 0 | 1.4k | 377 | 654 | 298 | 192 | 0 |
| *Ponticelli II virus* | 1.0k | 0 | 0 | 933 | 0 | 530 | 431 | 439 | 0 |




Próbka i takson Tabanidae

**Uwaga:** przypisanie metagenomiczne nie potwierdza obecności aktywnego wirusa; wymagane są walidacja mapowania i PCR/qPCR.

# Najczęściej przypisywane gatunki bakterii

Top 15 wg sumarycznego sygnału NGS w próbkach A1–A9

Liczby w komórkach = wartości sygnału NGS; barwa = skala log10.

Eukaryota
Parazita
Bioróżnorodność

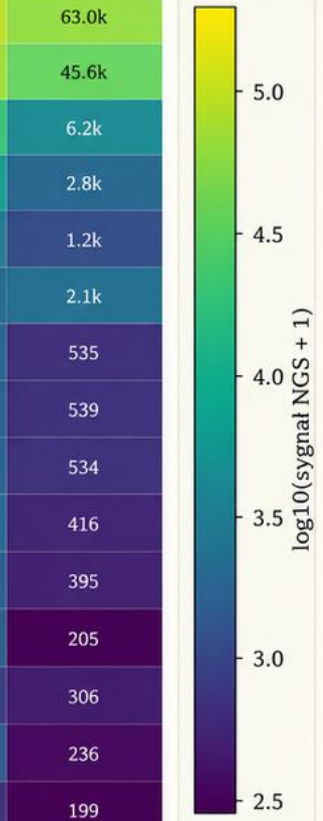
# Najczęściej przypisywane gatunki pasożytów

Top 15 taksonów pasożytniczych Eukaryota wg sumarycznego sygnału NGS

Z lasu do wiedzy

| Takson na poziomie gatunku | Białowieża | | | Pszczyna | | Puszcza Knyszyńska | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A1 Haematopota | A2 Tabanus | A3 Chrysops | A4 Haematopota | A5 Tabanus | A6 H. scutellata | A7 H. hispanica | A8 H. pluvialis | A9 Haematopota |
| *Trypanosoma melophagium* | 93.6k | 3.3k | 441 | 178k | 21.9k | 45.3k | 12.1k | 78.6k | 63.0k |
| *Trypanosoma theileri* | 86.4k | 1.2k | 502 | 94.0k | 78.3k | 28.3k | 4.6k | 66.6k | 45.6k |
| *Spirometra erinaceieuropaei* | 69.8k | 37.3k | 17.7k | 52.8k | 60.7k | 34.7k | 25.5k | 24.5k | 6.2k |
| *Dicrocoelium dendriticum* | 28.7k | 16.3k | 7.8k | 22.8k | 27.0k | 14.3k | 11.1k | 10.5k | 2.8k |
| *Strongyloides papillosus* | 17.7k | 6.4k | 4.4k | 13.3k | 11.6k | 7.6k | 6.3k | 5.4k | 1.2k |
| *Trypanosoma cruzi* | 5.1k | 1.8k | 758 | 7.1k | 5.1k | 2.6k | 1.4k | 2.8k | 2.1k |
| *Tritrichomonas foetus* | 6.4k | 3.2k | 2.2k | 5.1k | 3.9k | 2.9k | 2.1k | 2.1k | 535 |
| *Schistosoma haematobium* | 6.2k | 2.7k | 1.7k | 4.5k | 4.9k | 2.8k | 2.0k | 1.9k | 539 |
| *Trichomonas vaginalis* | 5.5k | 2.2k | 1.2k | 4.7k | 3.9k | 2.7k | 2.1k | 1.8k | 534 |
| *Neospora caninum* | 4.7k | 1.4k | 680 | 4.0k | 2.6k | 2.6k | 2.0k | 2.3k | 416 |
| *Toxoplasma gondii* | 3.4k | 1.6k | 1.1k | 2.8k | 3.5k | 1.8k | 1.4k | 1.6k | 395 |
| *Trichinella spiralis* | 3.3k | 1.7k | 499 | 2.9k | 1.8k | 1.8k | 1.3k | 1.5k | 205 |
| *Strongyloides ratti* | 2.8k | 2.2k | 1.6k | 1.9k | 3.0k | 1.3k | 983 | 802 | 306 |
| *Leishmania braziliensis* | 5.1k | 560 | 477 | 1.2k | 1.5k | 1.9k | 743 | 1.1k | 236 |
| *Plasmodium gallinaceum* | 2.5k | 973 | 802 | 2.0k | 2.9k | 1.1k | 973 | 553 | 199 |

Skala kolorów




Próbka i takson Tabanidae

Uwaga: są to przypisania taksonomiczne NGS; nie oznaczają automatycznie potwierdzonej inwazji gospodarza.

# Dziękuję za uwagę

Zdrowe środowisko
– zdrowi ludzie
– zdrowe zwierzęta
(One Health)

Nieinwazyjny **monitoring środowiska**
(ksenomonitoring) z użyciem latających strzykawek

Nauka
dla zdrowszej
przyszłości

Pytania?

*Przedstawione badania były częścią realizacji m.in. tematu statutowego PIWet-PIB S/645 pt. Ocena przydatności bąkowatych (Tabanidae) do nieinwazyjnego monitoringu zakażeń wirusowych w populacjach zwierząt wolno żyjących – badania wstępne.*