



ogólnopolski kwartalnik
dla lekarzy weterynarii

ISBN978-83-947967-9-2 (ISSN 1895-9024)

Lecznicza

DUŻYCH ZWIERZĄT

cena egz. 35 zł [w tym 5% VAT]

XVII Międzynarodowa Konferencja Bujatryczna Puławy 2023



MONOGRAFIA

Wybrane zagadnienia w patologii bydła - aktualny stan wiedzy

- *mała objętość iniekcji*
- *„0” karencji na mleko*
- *działanie anty-endotoksyczne*

Konie, bydło, świnie

Comforion® vet.

Ketoprofen (100 mg/ml)
roztwór do wstrzykiwań
dla koni, bydła i świń

Przeciwbólowo.

Przeciwzapalnie.

Przeciwgorączkowo.



- 4 Czynniki ryzyka ketozy krów mlecznych w Polsce
Zygmunt Kowalski, Marta Sabatowicz
- 7 Nowe trendy w suplementacji niedoborów selenu u bydła
Przemysław Sobiech, Katarzyna Żarczyńska, Karolina Cebulka
- 11 Niedobory mikroelementów ze szczególnym uwzględnieniem niedoborów Fe u bydła
Beata Abramowicz, Łukasz Kurek, Ewa Szczepańska, Krzysztof Lutnicki
- 16 Eksperymentalny preparat ziołowo-fagowy efekt jego oddziaływania w poprawie dobrostanu racic krów mlecznych
Renata Urban-Chmiel, Agnieszka Najda, Ewelina Pyzik, Rafał Stachura, Piotr Hola, Marta Dec, Anna Nowaczek, Klaudia Herman
- 23 Podstawy naukowe i zastosowania praktyczne przeciwciał na błony śluzowe u cieląt
Tadeusz Stefaniak, Joanna Bajzert, Paulina Jawor, Anna Rząsa
- 28 Leczenie klinicznego mastitis bądźmy selektywni!
Stephane Floch
- 34 Postępowanie diagnostyczne w przypadku upadków cieląt
Michał Bednarek
- 36 Bezzałogowe statki powietrzne wykorzystywane w ograniczaniu rozprzestrzeniania się czynników zakaźnych chorób zwierząt
Paweł Szymański, Krzysztof Niemczuk, Paweł Szczepaniak
- 43 Badanie USG bydła – możliwości wykorzystania w praktyce terenowej
Katarzyna Żarczyńska
- 51 Zakażenia wirusem BVD-MD w Polsce – aktualny status epizootyczny
Mirosław Polak
- 56 Występowanie koronawirusa bydła w populacji bydła w Polsce
Jerzy Rola, Wojciech Socha
- 59 Głowica bydła – powracające zagrożenie dawnym patogenem
Magdalena Larska
- 64 *Coxiella burnetii* – aktualna sytuacja epidemiologiczna i wpływ na parametry produkcyjne u bydła
Krzysztof Niemczuk, Monika Szymańska-Czerwińska, Agnieszka Jodełko
- 67 Chlamydioza bydła epidemiologia, diagnostyka i profilaktyka zakażeń
Monika Szymańska-Czerwińska, Krzysztof Niemczuk, Kinga Zaręba-Marchewka
- 72 Zastosowanie pegbowigrastymu do stymulacji układu odpornościowego u bydła
Katarzyna Dudek, Ewelina Szacawa, Dariusz Bednarek
- 76 Paratuberkuloza
Marek Lipiec





Czynniki ryzyka ketozy krów mlecznych w Polsce

Zygmunt Kowalski, Marta Sabatowicz

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Zagrożenie ketozą zmniejsza się odwrotnie proporcjonalnie do wielkości stada. Najwięcej krów podejrzanych jest w stadach najmniejszych, a najmniej w największych. Istotnym czynnikiem ryzyka jest brak grupowania krów, zwłaszcza zasuszonych.

Ketoza to jedno z najczęstszych zaburzeń metabolicznych krów mlecznych. Związana jest ze zmniejszeniem wydajności mleka, pogorszeniem wskaźników rozrodu oraz odporności na infekcje, co powoduje zwiększenie zachorowalności na *metritis* i *mastitis*. Krowy chorujące na ketozę znacznie częściej chorują na przemieszczenie trawieńca. Są również wcześniej i częściej brakowane.

Zmniejszenie pobrania paszy w okresie okołoporodowym, przy jednoczesnym zwiększeniu zapotrzebowania krowy na glukozę, powoduje pogłębienie się niedoboru glukozy. Stan ten popularnie nazywany jest ujemnym bilansem energii. Organizm krowy zostaje zmuszony do uruchomienia rezerw energetycznych. Uwolnione z tkanki tłuszczowej wolne kwasy tłuszczowe (NEFA) transportowane są z krwią do wątroby. W komórkach wątroby mogą dostarczyć znacznych ilości energii w procesie β -oksydacji, ale ten proces wymaga obecności glukozy. Przy braku glukozy, podczas niepełnego utleniania NEFA w wątrobie, w procesie ketogenezy wytwarzane są ciała ketonowe, które transportowane są do tkanek, stanowiąc rezerwę energii. Wyjściowym ciałem ketonowym jest kwas acetoctowy (AceAce), z którego powstaje kwas β -hydroksymaśłowy (BHB) w wyniku odwracalnej reakcji z udziałem enzymu dehydrogenazy

D(-)-3-hydroksymaśłanowej (rycina 1). Ponadto AceAce ulega ciągłej, samoistnej dekarboksylacji i przekształca się nieodwracalnie w aceton (ACE).

Równowaga reakcji powstawania BHB kontrolowana jest mitochondrialnym stosunkiem NAD^+ do NADH. Stosunek BHB do AceAce we krwi waha się w granicach od 1:1 do 10:1. Pewna część BHB w organizmie powstaje w komórkach ściany żwacza przez przekształcenie kwasu maśłowego, będącego produktem fermentacji w żwaczu. Kwasy BHB i AceAce są umiarkowanie mocnymi kwasami, a we krwi i tkankach są zbuforowane. Podczas zwiększonego wydalania ich nadmiaru dochodzi do utraty kationu buforującego w wyniku czego następuje stopniowe wyczerpanie rezerwy alkalicznej i rozwój kwasicy ketonowej.

Diagnozowanie i monitoring ketozy

Podstawową metodą diagnozowania ketozy, tak klinicznej jak i subklinicznej, jest oznaczanie stężenia BHB we krwi, najczęściej za pomocą glukometru (ketometru). Dla ketozy klinicznej wartością graniczną jest zawartość BHB we krwi $> 2,9$ mmol/L a dla subklinicznej od 1,2 do 2,9 mmol/L. Ta metoda diagnozowania pomija krowy, które mają podwyższoną zawartość ACE



w organizmie, a jednocześnie zawartość BHB jest poniżej wartości granicznej. W naszych badaniach (Kowalski i in., 2021) wykazaliśmy, że takich krów chorych na acetonowy typ hiperketolaktii w grupie krów podejrzanych o ketozę jest około 8%. W większym stopniu dotyczy to pierwiastek, zwłaszcza będących w okresie od 6. do 21. dnia laktacji (15% krów będących w stanie hiperketolaktii).

W naszym kraju prowadzony jest monitoring ketozy w stadach objętych oceną wartości użytkowej bydła, prowadzonej przez Polską Federację Hodowców Bydła i Producentów Mleka (PFHBiPM). Krowy, wskazane jako zagrożone ketozą w dniu doju próbnego, oznaczane są indeksem KI. Monitoring opiera się na analizie stężenia BHB i ACE w mleku, oznaczanych metodą FTIR w laboratoriach PFHBiPM. Monitoring ketozy prowadzony jest od 1 kwietnia 2013 r. i Polska była pierwszym krajem w świecie, w którym wdrożono taką metodę monitoringu ketozy.

Około 10-11% krów z populacji aktywnej wskazuje się jako zagrożone ketozą, co jest wartością niższą od podawanych w literaturze. Wynika to w znacznym stopniu z dłuższego okresu czasu w jakim monitoruje się krowy, tj. od 6. do 60. dnia laktacji (2 doje kontrolne). W wielu publikacjach dotyczących prewalencji ketozy obserwacjami obejmuje się krowy w okresie od porodu do 16-21 dnia laktacji.

Szczególnie dużo krów oznaczonych jako KI znajduje się w grupie pierwiastek, gdzie dominuje ketoza typu 2, co sugeruje nieprawidłowe odchowywanie młodzięży i złe wprowadzenie w pierwszą laktację. Z kolei u krów starszych ketoza najczęściej występuje od 21. do 60. dnia laktacji, co sugeruje występowanie ketozy typu 1. Wynika to z niewystarczającego pokrycia zapotrzebowania na składniki pokarmowe w okresie najwyższych wydajności. Krowy w trzeciej laktacji zwykle produkują więcej mleka niż pierwiastki, a niedożywione nie mogą uzyskać wysokich wydajności w szczycie laktacji.

Czynniki ryzyka ketozy

Skoro ketoza jest tak częsta i kosztowna (według McArt i in., 2015 – jeden przypadek subklinicznej ketozy kosztuje około 290 dolarów USA), uzasadniona jest jej prewencja. Wszelkie dzia-

Szczególnie dużo krów oznaczonych jako KI znajduje się w grupie pierwiastek, gdzie dominuje ketoza typu 2, co sugeruje nieprawidłowe odchowywanie młodzięży i złe wprowadzenie w pierwszą laktację. Z kolei u krów starszych ketoza najczęściej występuje od 21. do 60. dnia laktacji, co sugeruje występowanie ketozy typu 1.

łania prewencyjne powinny opierać się o rozpoznanie czynników ryzyka w stadzie.

Tematyka czynników ryzyka dla subklinicznej ketozy była przedmiotem kilku badań. Między innymi McArt i wsp. (2013) w badaniach prowadzonych w 4 stadach, na 1618 krowach będących w okresie od 3. do 16. dnia laktacji, wykazali, że czynnikami ryzyka ketozy były: stado, nadmierne kondycja krów, długość okresu ciąży (im dłuższa, tym większa zapadalność na ketozę) oraz numer laktacji. Z kolei czynnikami ryzyka nie były kulawizny (punktacja ruchu krów), trudność wycieleń, płęć cielęcia, ciąża bliźniacza oraz martwe cielę.

Z kolei w badaniach Van Holder i in. (2015) czynnikami ryzyka ketozy (hiperketonemii) były: nadmierne odtuszczenie krów, wiek krowy (numer laktacji), wydłużony okres zauszenia, nieprawidłowe żywienie w okresie zauszenia, niski poziom dobrostanu (np. nadmierne przeładowanie kojca), a także sezon wycieleń.

W badaniach kanadyjskich (Santschi i in., 2016) czynnikami ryzyka hiperketolaktii, czyli podwyższonego poziomu ciał ketonowych w mleku były: dzień laktacji, numer laktacji, sezon oraz wielkość stada. W innym badaniu kanadyjskim (Tatone i in., 2017) czynnikami ryzyka podwyższonej zawartości BHB w mleku u pierwiastek były: rasa, sezon wycieleń, dzień laktacji, wiek pierwszego wycielenia (im większy tym więcej ketozy), a także wydajność mleka (im większa tym więcej ketoz). Z kolei u wieloródek czynnikami ryzyka były podobnie: rasa, numer laktacji, dzień laktacji, sezon wycieleń, długość okresu



międzywycieleniowego (im dłuższy tym więcej ketoz), a także długość okresu zasuszenia (im dłuższy tym więcej ketoz), wydajność stada oraz zawartość tłuszczu w mleku w poprzedniej laktacji (im większa tym więcej ketoz). W badaniach węgierskich (Hejdel i in., 2018) czynnikami ryzyka hiperketolaktii były: dzień laktacji, numer laktacji, fakt urodzenia bliźniąt oraz trudny poród.

Z przedstawionych przykładów wynika, że pewna część czynników ryzyka jest uniwersalna (np. numer laktacji), a inne są specyficzne dla miejsca prowadzenia obserwacji (bliźnięta – w USA nie są czynnikami ryzyka, podczas gdy na Węgrzech poród bliźniaczy był istotnym czynnikiem ryzyka).


Czynniki ryzyka subklinicznej ketozy w Polsce

W pracy doktorskiej mgr inż. Marty Sabatowicz określano czynniki ryzyka występowania subklinicznej ketozy w stadach krów mlecznych w Polsce. Specyfika hodowli i chowu krów mlecznych w Polsce znacząco różni się od specyfiki w USA czy na Węgrzech. W badaniach Sabatowicz i in. (w druku) postawiono więc hipotezę, że charakterystyka stad krów mlecznych w Polsce może sugerować, że czynniki ryzyka hiperketolaktii mogą być inne niż opisane w innych krajach.

Krowy w stanie hiperketolaktii charakteryzowano na podstawie zawartości w mleku ACE (mACE) oraz BHB (mBHB). Za krowy chore uznano te, u których w próbce mleka pobranego w czasie doju kontrolnego znajdowało się mACE $\geq 0,15$ mmol/L lub BHB $\geq 0,10$ mmol/L). Identyfikacji czynników ryzyka identyfikowano na podstawie danych uzyskanych z PFHBiPM dotyczących numeru laktacji, dni laktacji, wielkości stad oraz dziennej wydajności mleka w stadzie. Ponadto przeprowadzono badanie ankietowe wśród właścicieli/zootechników posiadających krowy objęte systemem oceny. W badaniach ankietowych zadano proste pytania dotyczące systemu utrzymania krów, systemu zadawania paszy, grupowania krów, grupowania krów zasuszonych, dokonywania oceny kontroli BCS, wykonywania analiz chemicznych pasz, a także wykształcenia hodowcy oraz modernizacji budynków inwentarskich. Badania ankietowe przeprowadzono w 2018 roku i uzyskano około 14 000

odpowiedzi. Na podstawie odpowiednio skonstruowanego modelu statystycznego określono istotność poszczególnych czynników ryzyka. Na podstawie tak przeprowadzonych badań populacyjnych stwierdzono, że wśród czynników ryzyka hiperketolaktii (ketozy) w Polsce najważniejsze to: numer laktacji (im starsze są krowy tym więcej z nich choruje na ketozę), liczba dni po wycieleniu, wielkość stada (im większe jest stado tym mniej krów choruje na ketozę), średnia wydajność mleka w stadzie (im wyższa jest średnia dzienna wydajność mleka w stadzie, tym mniejsze jest ryzyko ketozy), wypas pastwiskowy (wypas pastwiskowy zwiększa ryzyko ketozy), grupowanie krów zasuszonych (zwiększenie liczby grup krów zasuszonych z 0 do 1 oraz z 1 do 2 istotnie zmniejsza ryzyko ketozy), wykonywanie analiz chemicznych paszy (bilansowanie dawek w oparciu o analizy chemiczne zmniejsza ryzyko ketozy), kierunkowe wykształcenie hodowcy i modernizacja gospodarstw (modernizacja dokonana 20 lat temu, w stosunku do wykonywanej niedawno, zwiększała ryzyko ketozy).

Podsumowanie

W świetle wyników uzyskanych w naszym badaniu można stwierdzić, że w Polsce hiperketolaktia (ketoza) nie jest chorobą krów wysoko wydajnych, a wysoka wydajność mleka, tak często wskazywana jako główny powód ujemnego bilansu energii, nie jest czynnikiem ryzyka ketozy. Natomiast jest to choroba krów utrzymywanych w małych gospodarstwach, o niskiej wydajności mleka, ze złymi warunkami utrzymania, w których popełnia się błędy żywieniowe. Zagrożenie ketozą zmniejsza się odwrotnie proporcjonalnie do wielkości stada. Najwięcej krów podejrzanych jest w stadach najmniejszych, a najmniej w największych. Istotnym czynnikiem ryzyka jest brak grupowania krów, zwłaszcza zasuszonych. Udział krów podejrzanych o ketozę ulega dużym wahaniom w zależności od rejonu Polski. Zagrożenie krów ketozą typu 2 (pomiędzy 6. a 21. dniem laktacji) jest większe niż ketozą typu 1, występującą od 22. do 60. dnia laktacji. Podobnie jak w innych badaniach, większe ryzyko ketozy istnieje u krów pierwiastek oraz u krów starszych w 3 laktacji i powyżej. 



Nowe trendy w suplementacji niedoborów selenu u bydła

Przemysław Sobiech, Katarzyna Żarczyńska, Karolina Cebulka

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Problemy związane z niedoborem selenu u przeżuwaczy są nadal dużym wyzwaniem profilaktycznym i terapeutycznym. Poszukiwanie i stosowanie nowych form suplementacji tego pierwiastka (szczególnie środków pochodzenia organicznego) może być bezpieczną i skuteczną drogą ich rozwiązywania.

Selen jest dosyć słabo rozpowszechniony w przyrodzie, zalicza się go do pierwiastków śladowych i stanowi około 0,00008% masy skorupy ziemskiej (Bednarek i Bik 1994). Bioprzyzwajalność selenu zależy zarówno od formy występowania i składu paszy, jak i od indywidualnych właściwości organizmu. Najłatwiej przyswajalne są seleniany (SeO_3) oraz aminowe związki selenu (Qin i in 2007). Selen w układzie pokarmowym przeżuwacza wchłania się głównie (po jego absorpcji przez drobnoustroje żwacza) w jelicie cienkim, ślepyim i okrężnicy. Jego przyswajalność zwiększa się w diecie bogatej w małowczątkowe białka i witaminy E, A oraz C. Zawartość Se w organizmie jest bardzo zróżnicowana. Największe powinowactwo selen wykazuje do mózgu, gruczołów dokrewnych i narządów biorących udział w reprodukcji. Mają one pierwszeństwo w pobieraniu tego pierwiastka, przed wątrobą, sercem, mięśniami szkieletowymi i erytrocytami, co przy niedoborze warunkuje powstawanie zaburzeń najpierw w tych tkankach i narządach (Chen i Berry 2003).

Choroby wynikające z niedoboru Se

Powszechnie znanym schorzeniem spowodowanym niedoborem selenu lub/i witaminy E jest pokarmowa dystrofia mięśni, zwana też chorobą białych mięśni. Istotą schorzenia jest zwyrodnienie szkliste komórek mięśniowych

w mięśniach szkieletowych różnych okolic ciała, niekiedy również w przeponie i mięśniu sercowym. Najczęściej na PDM zapadają cielęta w wieku 4-6 tygodni. Obserwuje się zależność pomiędzy lokalizacją zmian a aktywnością poszczególnych partii mięśni. Często u noworodków narządem, w którym występuje zwyrodnienie szkliste jest mięsień sercowy, najbardziej aktywny w życiu płodowym.

W obrazie klinicznym można wyróżnić trzy postaci tego schorzenia: nadostrą, ostrą i podostrą. Postać nadostra występuje u cieląt po urodzeniu i dotyczy głównie mięśnia sercowego. Objawy towarzyszące tej postaci to arytmia (uderzenia serca w granicach 150-200/minutę), przyspieszone oraz słabo wyczuwalne i niemięrowe tętno. Pojawia się silna duszność spoczynkowa, zasinienie błon śluzowych oraz oddychanie przez otwartą jamę ustną. Stan zwierzęcia gwałtownie się pogarsza, a śmiertelność zazwyczaj sięga 100%.

W postaci ostrej zmiany lokalizują się w mięśniach szkieletowych, międzyżebrowych i przeponie oraz w mięśniu sercowym. Cielęta przyjmują nieprawidłową postawę z szeroko rozstawionymi kończynami, zgarbioną linią kręgosłupa, szyją wyciągniętą do przodu i ograniczoną w ruchach. Poruszając się, chore zwierzęta opierają się na krawędziach raciczek, a ich nogi są sztywno wyprostowane. Cielęta zalegające często podejmują próby wstawania, jednak nie są



w stanie długo utrzymać równowagi, dodatkowo występują drżenia mięśni, szczególnie kończyn tylnych. Ciepłota wewnętrzna pozostaje w normie, chyba że dochodzi do wtórnych infekcji. Tętno jest przyspieszone i nieregularne, występuje duszność spoczynkowa, czasami może pojawić się sinica. Śmiertelność może sięgać 60% (Abutarbush i Radostits 2003).

Najczęściej spotykaną postacią pokarmowej dystrofii mięśni jest postać podostra, w przebiegu której objawy uzależnione są od partii mięśni objętych procesem zwyrodnieniowym (mięśnie kończyn, tułowia, szyi, języka, gardła, przełyku). Cielęta mają trudności ze wstawianiem i utrzymaniem pozycji stojącej, podczas ruchu obserwuje się rotację w pęcinach i stawianie raciczek na czubkach. Zmiany mięśniówki języka uniemożliwiają ssanie i połykanie, są też przyczyną wydalania mleka przez nozdrza. Cielęta z hiposelenozą wykazują również zwiększoną zachorowalność na infekcje układu oddechowego i pokarmowego. Często obserwuje się zmniejszenie przyrostów masy ciała. U niektórych zwierząt pokarmową dystrofię mięśni rozpoznaje się tylko na podstawie wyników oznaczeń aktywności enzymów w surowicy – aminotransferazy asparaginianowej (AST) oraz kinazy kreatynowej (CK) (Żarczyńska i in. 2017). W badaniu anatomopatologicznym, w objętych procesem chorobowym mięśniach obserwuje się białoszare zmiany przypominające ugotowane rybie mięso, które kontrastują z normalną czerwono-brązową tkanką mięśniową. Czasami w zwyrodniałych mięśniach odkłada się wapń i wówczas ich powierzchnia może być biała.

Najczęstszym skutkiem niedoboru selenu i witaminy E u dorosłych zwierząt jest osłabienie płodności. Jednym z często pojawiających się zaburzeń okresu okołoporodowego towarzyszących hiposelenozie jest zatrzymanie łożyska. Tłumaczy się to między innymi tym, że funkcją ochronną łożyska ulegającego szybkim zmianom degeneracyjnym po porodzie pełni selenozależna peroksydaza glutationowa. Enzym ten metabolizuje nadtlenki, przekształcając je w formy mniej aktywne biologicznie, chroniąc w ten sposób błony komórkowe przed ujemnymi następstwami utleniania, które mogą prowadzić do zmian fizyko-chemicznych. Inną „selenopochodną” przyczyną zatrzymania łożyska może być uszkodzenie neutrofilów przez reaktyw-

ne formy tlenu (Palmieri i Szarek 2011). Łożyska krów z niedoborem selenu znacznie szybciej ulegają procesom gnilnym, a mimo to przy ręcznym „odklejaniu” natrafia się na trudności.

Niedoborom selenu przypisuje się również wpływ na powstawanie ropnych zapaleń błony śluzowej macicy, trudne porody związane ze słabym napięciem mięśniówki macicy oraz zaleganie poporodowe. Niedobór tego pierwiastka może być przyczyną zwiększonej zamieralności zarodków w czasie 3-4 tygodni od inseminacji (Ishi i in. 2002).

Selen z witaminą E stymuluje migrację neutrofilów do gruczołu mlekowego oraz zwiększa ich zdolność do zabijania bakterii. Uzupełnianie dawek pokarmowych w Se i wit. E skraca czas trwania klinicznego *mastitis* oraz łagodzi jego przebieg (jednak dotyczy to stad, w których stwierdzono niedobór tych składników) (Moeini i in. 2009).

Suplementacja niedoborów selenu

W przypadku wystąpienia chorób związanych z niedoborem Se, a szczególnie pokarmowej dystrofii mięśni cieląt, należy wszystkim zwierzętom w stadzie podać parenteralnie preparat selenowy wraz z witaminą E w dawce 5 mg Se/50 kg m.c i 250 mg witaminy E. Profilaktyka schorzeń związanych z niedoborem tego pierwiastka polega na podawaniu krowom (szczególnie wysokocielnym) paszy o właściwej koncentracji selenu (0,15–0,3 ppm suchej masy paszy) lub na jego parenteralnej suplementacji w ilości 15 mg Se/sztukę na 1-2 miesiące przed planowanym wycieleniem oraz zastosowanie podobnej dawki u ich cieląt w kilka dni po porodzie. Najczęściej stosowaną formą suplementacji są domięśniowe iniekcje preparatów zawierających selenian sodu. Inną formą suplementacji tego pierwiastka jest stosowanie długo działających preparatów jakim jest selenian baru. W badaniach własnych (Milewski i in. 2021) przeprowadzonych na owcach i jagniętach wykazano, że podskórna iniekcja selenianu baru w dawce 1 mg Se/1 kg m.c u owiec w trzecim miesiącu ciąży zdecydowanie podnosiła surowiczą koncentrację tego pierwiastka aż do setnego dnia laktacji, dodatkowo też obserwowano istotne zmniejszenie liczby komórek somatycznych w mleku badanych owiec. Zastosowanie takiej samej suplementacji u jagnięt w 4. dniu po po-



BOLUSY LIVISTO UNIKALNE I REWOLUCYJNE



COSECURE

dożwaczowy, odżywczy bolus o ciągłym uwalnianiu, zawierający kobalt, selen i miedź Bolus o powolnym uwalnianiu mikroelementów

- zwiększa płodność, przyrosty m.c. oraz rentowność stada
- dostarcza taką samą ilość mikroelementów każdego dnia
- kontrolowane i stałe tempo uwalniania przez okres do **6 miesięcy**
- opakowanie: 20 bolusów



Nowość


CALIBOL

mineralna mieszanka paszowa uzupełniająca dietetyczna dla krów mlecznych zmniejszająca ryzyko wystąpienia gorączki mlecznej

- wapń o wysokiej biodostępności
- szybki i długotrwały efekt
- innowacyjna powłokowa celulozowa, zapewniająca optymalne uwalnianie
- opakowanie: **20 bolusów**



Along with you

Znajdź nas na 
www.facebook.com/borazemyjesielepiej


LIVISTO Sp. z o.o.
ul. Chwaszczyńska 198 a · 81-571 Gdynia
tel.: 58/572 24 38 · fax: 58/572 24 39 · www.livisto.pl



rodzie podobnie istotnie zwiększało długotrwałe stężenie selenu, dodatkowo zaobserwowano bardzo pozytywny wpływ na stymulację układu immunologicznego – zwiększała się aktywność lizozymu i ceruloplazminy, wzrosła koncentracja gammaglobulin oraz stwierdzono podwyższenie aktywności metabolicznej fagocytów (RBA) i ich zdolności do wewnątrzkomórkowego zabijania (PKA) (Milewski i in. 2021).

Jednymi z najnowszych postaci selenu przeznaczonych do suplementacji tego pierwiastka w stanach niedoborowych i fizjologicznych są seleninotriglicerydy, które zawierają selen na +4 stopniu utlenienia. Stanowią nową grupę półsyntetycznych związków, będących połączeniem triglicerydów z selenem, uzyskanych poprzez chemiczną modyfikację oleju słonecznikowego za pomocą kwasu selenowego (Stańczyk i in. 2010). Badania wykonane na szczurach wykazały, że seleninotriglicerydy są dobrze wchłaniane po podaniu doustnym, podskórnym i dootrzewnowym. Po absorpcji selenu z przewodu pokarmowego następuje jego wiązanie przez erytrocyty, albuminy i globuliny osocza, a następnie transport do tkanek. Najwyższe surowicze stężenie Se u tych zwierząt wykazano po 2 i 2,5 godzinach, odpowiednio po podaniu doustnym i podskórnym. Lipofilne właściwości seleninotriglicerydów są odpowiedzialne za ich szybką dystrybucję w całym organizmie. Badania na szczurach dowiodły, że średnia doustna dawka śmiertelna Se LD50 dla seleninotriglicerydów podanych w stężeniu 2% wynosiła 100 mg/kg mc a dla 10% 68 mg/kg mc. Dane te wskazują, że seleninotriglicerydy w stężeniu 2% są ponad 30 razy mniej toksyczne od selenianu sodu – dawka śmiertelna LD50 dla szczura wynosi 3 mg/kg mc (Jastrzębski i in 1997). W badaniach własnych wykonanych na krowach w laktacji, gdzie podawano doustnie seleninotriglicerydy przez 14 dni w dawce 300 mg/krowę dziennie, zaobserwowano gwałtowny wzrost surowiczego stężenia selenu już na drugi dzień po podaniu, co świadczy o bardzo szybkiej dystrybucji tego pierwiastka w organizmie przy tej formie suplementacji (Żarczyńska i in. 2020). Zastosowana dawka seleninotriglicerydów była bardzo skuteczna, gdyż maksymalne stężenie Se, jakie osiągnięto w 7. dniu podawania, wynosiło ponad 250 µg/l surowicy, a istotnie podwyższone stężenie tego pierwiastka utrzymywało się do

28. dni od rozpoczęcia eksperymentu. Badania kliniczne oraz wybranych parametrów morfologicznych i biochemicznych krwi nie wykazały żadnych ujemnych następstw stosowanej suplementacji. W innym badaniu własnym zastosowano jednokrotną doustną dawkę seleninotriglicerydów u cieląt w okresie neonatalnym (Żarczyńska i in. 2021). Podanie selenu cielętom w tej postaci w dawce 1 mg Se/kg m.c podwyższyło istotnie koncentrację tego pierwiastka w surowicy już na drugi dzień (do 210 µg/l), a wyższe stężenie Se utrzymywało się do 14. dnia po suplementacji. Przedstawione rezultaty badań własnych udowadniają, że seleninotriglicerydy są skutecznym i bezpiecznym źródłem selenu zarówno dla osobników dorosłych jak i cieląt.

Korzystne także okazuje się dodawanie do karmy 20 g mieszanki mineralnej na cielę (20 ppm selenu) lub 100-150 g tej mieszanki na krowę. Na terenach niedoborowych interesującą metodą jest dodatek do nawozów sztucznych seleninu sodowego w ilości od 10 do 35 g na hektar. Zalecana natomiast dawka selenu dla owiec wynosi 1 mg na 10 kg mc., w praktyce podaje się 1 mg aktywnego selenu jagniętom i do 5 mg osobnikom dorosłym. 

Piśmiennictwo:

1. Abutarbush S.M., Radostits O.M. 2003. Congenital nutritional muscular dystrophy in a beef calf. *Can. Vet. J.* 44: 738-739.
2. Bednarek D., Bik D. 1994. Wpływ selenu na stan zdrowotny zwierząt. Część I. Właściwości toksyczne. *Życie Weterynaryjne* 6: 240-242.
3. Chen J., Berry M.J. 2003. Selenium and selenoproteins in the brain and brain diseases. *J. Neurochem.* 86: 1-12.
4. Ishii M., Ogata H., Shimizu H., Takeuchi Y., Nozawa T., Yamamoto Y., Okamoto T., Shimamura T., Utsumi A., Jitsukawa T., Endo M., Fukuda T., Yamanoi T. 2002. Effects of vitamin E and selenium administration on pregnant, heavy draft mares on placental retention time and reproductive performance and on white muscle disease in their foals. *J. Equine Vet. Sci.*, 22: 213-220.
5. Jastrzębski Z., Czyżewska-Szafran H., Remiszewska M., Fijałek Z., Fitak B.A., Suchocki P. 1997. Pharmacokinetics of selol, a new agent containing selenium, in rats. *Drugs Exp. Clin. Res.*, 23: 7-11.
6. Milewski S., Sobiech P., Błażej-Grabowska J., Wójcik R., Żarczyńska K., Miciński J., Ząbek K. 2021. The efficacy of a long-acting injectable selenium preparation administered to pregnant ewes and lambs. *Animals* 11: 1076.
7. Moeini M.M., Karami H., Mikaeili E. 2009. Effect of selenium and vitamin E supplementation during the late pregnancy on reproductive indices and milk production in heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 114: 109-114.
8. Palmieri C. H., Szarek J. 2011. Effect of maternal selenium supplementation on pregnancy in human and livestock. *J. Elem.*, 16: 143-156.
9. Qin S., Gao J., Huang K. 2007. Effects of different selenium sources on tissue selenium concentrations, blood GSH-Px activities and plasma interleukin levels in finishing lambs. *Biol. Trace Elem. Res.*, 116: 91-102.
10. Stańczyk M., Jaworska M., Wilk M., Suchocki P., Anuszczyk E. 2010. The effect of selenium on redox state and thiols changes in lung tissue after Selol, a new organoselenium (IV) compound, administration. *Centr. Eur. J. Immunol.*, 35: 115-122.
11. Żarczyńska K., Sobiech P., Mee J., Illek J. 2020. The influence of short-term selenitriglycerides supplementation on blood selenium, and hepatic, renal, metabolic and hematological parameters in dairy cows. *Polish J. Vet. Sci.*, 4: 637-646.
12. Żarczyńska K., Sobiech P., Tobolski D., Mee J., Illek J. 2021. Effect of a single, oral administration of selenitriglycerides, at two dose rates, on blood selenium status and haematological and biochemical parameters in Holstein-Friesian calves. *Irish Vet. J.*, 74: 11.
13. Żarczyńska K., Baumgartner W., Sobiech P. 2017. Coagulology, biochemical profile and muscle pathology in calves diagnosed with nutritional muscular dystrophy. *Polish J. Vet. Sci.*, 20: 387-394.



Niedobory mikroelementów

ze szczególnym uwzględnieniem niedoborów Fe u bydła

Beata Abramowicz¹, Łukasz Kurek¹, Ewa Szczepańska², Krzysztof Lutnicki¹

¹ Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie; ² lek. wet. wolnej praktyki
e-mail: lukasz.kurek@up.lublin.pl

Stosowanie coraz chętniej przez hodowców prawidłowej, a nawet ukierunkowanej profilaktyki mikroelementów oraz precyzyjnego bilansowania dawki powoduje, że coraz częściej występują formy atypowe lub o chronicznym przebiegu, a rzadziej typowe postaci kliniczne niedoborów.

Zaburzenia metaboliczne w stadach bydła mlecznego, a w szczególności niedobory składników mineralnych, występują najczęściej w okresie dużych zmian w organizmie, czyli w czasie porodu i okresu okołoporodowego (początek i szybko wzrastająca laktacja) oraz w szczycie laktacji. Istotne jest, że w tych okresach, a przede wszystkim w czasie okresu poporodowego, krowy wykorzystują także własne rezerwy ustrojowe, co może wywoływać zmiany podkliniczne lub o atypowym przebiegu, które w każdej chwili mogą przekształcić się w najcięższe postaci chorób. Dlatego w nowoczesnej hodowli bardzo ważne jest dokładne bilansowanie dawki pokarmowej i stosowanie prawidłowej, najlepiej ukierunkowanej na rozpoznany wcześniej problem profilaktyki, uzależnionej nie tylko od produktywności poszczególnych zwierząt, ale również od ich masy ciała i wieku. Takie działanie zmniejsza ilość najtrudniejszych przypadków klinicznych, które powodują największe i jednocześnie najbardziej zauważalnych strat ekonomicznych. Nie można jednak zapominać, że w dalszym ciągu notowane są zaburzenia o różnym stopniu nasilenia, które

równocześnie są najtrudniejsze do rozpoznania i zastosowania leczenia, szczególnie w warunkach terenowych, w oparciu o badanie kliniczne lub podstawowe analizy laboratoryjne. Podkliniczne – utajone i atypowe postaci niedoborów nie dają często w początkowym okresie widocznych zmian. Właściciele zwierząt i lekarze weterynarii stwierdzają istniejący problem dopiero w oparciu o wyniki produkcji mlecznej lub zaburzenia w układzie rozrodczym i rodzeniu słabszych cieląt, ale do postawienia prawidłowej diagnozy może być jeszcze daleka droga. Równocześnie, długo utrzymujące się zaburzenia metaboliczne w stadach i rozwijające się stopniowo objawy atypowe i powikłania z nimi związane mogą prowadzić do usuwania z dalszej hodowli i produkcji krów o szczególnie dobrych parametrach genetycznych. Problem ten jest widoczny głównie w małych i średnich oborach, gdzie częściej mogą się zdarzać błędy ludzkie i które są w mniejszym stopniu zmechanizowane. Utajone zaburzenia metaboliczne występują także w oborach wysokoprodukcyjnych, w których najczęściej uwagi kładzie się na wzrost lub utrzymanie produkcji mlecznej przy stabilnej ilo-



ści pogłównia. Nadmienić należy również, że początek laktacji związany z coraz wyższą i szybko narastającą produkcją mleczną, to jednocześnie moment zwiększenia funkcji, a nawet przeciążenia narządów mięszoowych oraz wzrastającego zapotrzebowania na związki energetyczne. Taki stan może pogłębić i przyspieszyć występowanie objawów niedoborów mineralnych w tym okresie, ponieważ narządy biorą czynny udział w przyswajaniu i metabolizmie składników mineralnych poprzez produkcję, uaktywnianie hormonów i enzymów oraz wytwarzanie białek transportowych, a ujemny bilans energetyczny wpływa na zwiększenie zapotrzebowania na pierwiastki uczestniczące w przemianach metabolicznych.

W hodowli bydła mlecznego ciągle obserwuje się zaburzenia w gospodarce mikroelementów u zwierząt. Do najczęściej notowanych niedoborów tych pierwiastków zalicza się miedź (Cu), cynk (Zn) i selen (Se), a rzadziej żelazo (Fe). Związane jest to często z niewłaściwym żywieniem zwierząt przez hodowców oraz występowaniem w paszy substancji działających antagonistycznie do wyżej wymienionych pierwiastków. Niedobory te potęgowane są sposobem użytkowania krów oraz ich wysoką produkcją mleczną a także metodami przygotowywania i zadawania pasz.

Niedobory miedzi

Cu jest ważnym mikroelementem dla funkcjonowania zwierząt i utrzymania ich dobrostanu. Uczestniczy w produkcji energii, melaniny, syntezie tkanki łącznej i neuroprzekaźników poprzez enzymy (miedziowe), których jest składnikiem i aktywatorem. Także bierze udział w metabolizmie i mobilizacji żelaza z wątroby i jego transporcie do szpiku kostnego, gdzie Fe jest wykorzystywane do powstawania krwinek czerwonych. Większość miedzi występującej w surowicy wchodzi w skład ceruloplazminy (Cp) – białka ostrej fazy, niezbędnego przy metabolizmie żelaza. Katalizuje ona reakcje utleniania żelaza do Fe^{3+} , co sprzyja wiązaniu żelaza z transferyną i jego transport w osoczu krwi. Żelazo jest także istotnym pierwiastkiem wykorzystywanym do prawidłowego funkcjonowania krów. Fe jako składnik hemoglobiny i mioglobiny uczest-

niczy w przenoszeniu tlenu w ustroju. Wspomaga prawidłową pracę układu odpornościowego i nerwowego oraz bierze udział w przemianach energetycznych (Mohammed i wsp. 2014, Wierzbicka i Gromadzka 2014, Collins 2010, Joerling i Doll 2019). Niedobór miedzi najczęściej jest łączone z objawem tak zwanych „okularów miedziowych”, czyli zmian lokalizujących się przede wszystkim właśnie wokół oczu, ale obniżenie zawartości tego mikroelementu w organizmie w rzeczywistości może powodować także formy wywołujące przewlekłą biegunkę lub zaburzenia w układzie ruchu. „Okulary miedziowe” to, najprościej opisując, zmiany w okrywie włosowej rozwijające się najpierw w postaci siwienia (odbarwienie) włosów wokół oczu, nasady rogów, na szyi, przedpiersiu i rzadziej na przednich kończynach, a nawet w skrajnych przypadkach kłębie. Później dochodzi dodatkowo do niewielkich przerzedzeń lub utraty sierści w tych miejscach, oczywiście zaczynając od miejsc wokół oczu. Ze względu na tak położone zmiany oraz ich rodzaj, w diagnostyce trzeba takie przypadki różnicować, szczególnie z chorobami pasożytniczymi (świerzb) oraz innymi dermatozami, i równocześnie z niedoborem cynku. Rozwijająca się przy niedoborze miedzi biegunka słabo lub wcale nie reaguje na typowe leki stosowane w przypadkach oddawania przez zwierzęta takiego kału, czyli antybiotyki, środki przeciwzapalne i rozkurczowe oraz witaminy, przede wszystkim z grupy B. Nie zawsze taka sytuacja prowadzi jednak do rozpoznania niedoboru Cu, ponieważ o wiele częściej brane pod uwagę są choroby zakaźne, szczególnie o podłożu wirusowym. Inaczej sytuacja przedstawia się w przypadku zmian w układzie ruchu powodowanych niedoborem miedzi. Rozwijają się one powoli i z różnym nasileniem, co potrafi dawać obraz kliniczny przypominający problemy atypowe występujące przy niedoborze fosforu lub wapnia. Objawy stwierdzone w wywiadzie i podczas badania klinicznego to: trudności ze wstawaniem, przyjmowaniem pozycji leżącej czy przestępowanie z nogi na nogę. Mniejsza liczbę zwierząt ma bolesność kończyn przy omacywaniu, obrzęki jednej lub obu kończyn w okolicy pęciny i stawów oraz nieprawidłowe opieranie kończyn, co prowadzi do występowania kulawizn. Dla hodowców na pierwszy plan wysuwa się obniżona mleczność, która często



jest powodem wezwania lekarza weterynarii. Inne objawy, z którymi możemy się spotkać w przebiegu hipokupremii (niedobór miedzi), to: anemia, przyspieszone tętno i oddechy, zmniejszony okresowo apetyt oraz brak lub cicha ruja. Stawianie rozpoznania w oparciu o wywiad i objawy kliniczne często w przypadkach niedoboru miedzi prowadzi do błędnych wniosków, dlatego najskuteczniej jest wykonać badania laboratoryjne, chociaż nie jest to zawsze i wszędzie możliwe do przeprowadzenia (Lutnicki i wsp. 2017; Kurek i wsp. 2017; Menzir i Dessie 2017).

Z doświadczenia własnego autorów wynika, iż długotrwały niedobór mikroelementów w paszy często prowadzi do rozwinięcia się u krów postaci podklinicznej choroby niedoborowej, kończącej się często postacią kliniczną z powodu braku stosowania odpowiedniej profilaktyki. W formie podklinicznej, u pacjentów obserwuje się nieswoiste objawy kliniczne, takie jak: obniżony lub zmienny apetyt, spadek wydajności mlecznej, jałowosc, kulawizny wynikające z bolesności lub obrzęków stawów (Menzir i Dessie 2017; Perdrizet i wsp. 2020).

Wysokie stężenie żelaza

Dane literaturowe (Menzir i Dessie, 2017; Perdrizet i wsp. 2020) wskazują na równoczesne występowanie niedoboru Cu i wysokie stężenie Fe u krów. Niedobór miedzi jest częstym problemem notowanym na całym świecie. Hipokupremia obserwowana jest od 16% do 100% (na terenach niedoborowych w Cu) u badanych zwierząt. U krów z niedoborem Cu często obserwuje się odbarwienia sierści (siwienie) w okolicy oczu (tzw. okulary miedziane), na głowie, szyi i kłębie. U nieznacznego odsetka zwierząt występują ponadto stany zapalne w okolicy szpary międzyracicznej i koronki. U krów niejednokrotnie odnotowywane zostają objawy niespecyficzne, takie jak: obniżona wydajność mleczna, zaburzenie w pobieraniu pokarmu oraz utrata masy ciała. Ponadto w hipokupremii u bydła w badaniu klinicznym lekarze weterynarii obserwują bledosc błon śluzowych, przyspieszone oddechy oraz akcentację tonów serca, co jest związane często z rozwinięciem się niedokrwistości z niedoboru Cu (Lazarchick 2012; Mohammed i wsp. 2014, Kurek i wsp. 2017, Perdrizet

i wsp. 2020). Natomiast niedobór żelaza u bydła jest rzadko spotykany ze względu na żywienie krów pełnoporcjowymi mieszankami paszowymi oraz występowaniem dużej zawartości Fe w wodzie. Występować on może u zwierząt, które karmione są paszami zawierającymi duże ilości antagonistów żelaza, które zaburzają jego prawidłowe wchłanianie w jelicie cienkim (Fazzio i wsp. 2010; Mohammed i wsp. 2014). U krów z niedoborem żelaza obserwuje się problemy z apetytem, utratę masy ciała do charłactwa, zwiększoną podatność osobników na infekcje oraz zaburzenie procesów fermentacji w żwacu. Przy długo trwającym braku dostarczania żelaza do organizmu, może rozwinąć się niedokrwistość, która w badaniach krwi określona została jako mikrocytarna niedobarwliwa (Joerling, Doll 2019, Wysocka i wsp. 2020; Kaczmarek i wsp. 2021).

Niedobór Cu w organizmie jest trudny do rozpoznania w badaniach krwi, ponieważ stężenie tego pierwiastka w analizach laboratoryjnych mieści się na niezachwianym poziomie do momentu wyczerpania miedzi zmagazynowanej w wątrobie. Metabolizm żelaza jest uzależniony od zawartości Cu w organizmie i niejednokrotnie obserwuje się, iż mimo prawidłowego stężenia Fe we krwi, któremu towarzyszy hipokupremia, występuje upośledzone wykorzystanie Fe w hematopoezie, co prowadzi do rozwoju niedokrwistości u zwierząt (Wierzbiicka i Gromadzka 2014, D'Angelo 2016).

Podkliniczne – utajone i atypowe postaci niedoborów nie dają często w początkowym okresie widocznych zmian. Właściciele zwierząt i lekarze weterynarii stwierdzają istniejący problem dopiero w oparciu o wyniki produkcji mlecznej lub zaburzenia w układzie rozrodczym i rodzeniu słabszych cieląt, ale do postawienia prawidłowej diagnozy może być jeszcze daleka droga.




Obserwacje własne

Na podstawie własnych obserwacji i przebadaniu ponad 30 stad (małych i średnich), we wszystkich gospodarstwach stwierdzono w krwi i sierści obecność niedoborów przynajmniej jednego z trzech mikroelementów (Cu, Zn i Fe). Wbrew spodziewanym wynikom, w większości stad nie odnotowano problemów z niskim stężeniem selenu, co mogło być związane z obszarem, na którym wykonano badania, czyli woj.: lubelskim, podkarpackim i śląskim. W największym odsetku badanych gospodarstw wystąpił niedobór Cu – w ponad 80% badanych stad, a najrzadziej obserwowano niedobór żelaza – około 30% gospodarstw. Należy zaznaczyć, że niedobór Fe u bydła w badanych gospodarstwach odnotowano u dużego odsetka badanych krów. Niedobór Zn wystąpił tylko u pojedynczych zwierząt. Stwierdzono, że częstotliwość niedoboru Cu w stadach bydła mlecznego na terenie Lubelszczyzny wynosi w granicach 30–60% badanych zwierząt w stadzie. Coraz częściej występują przypadki mieszane niedoboru Cu i Fe u krów. W gospodarstwach, w których obserwowano obniżone stężenie Zn we krwi krów, równocześnie u innych zwierząt w tym stadzie występował niedobór Cu, Fe lub selenu. Natomiast w gospodarstwach, w których stwierdzono niedobór Cu u badanego bydła, równocześnie obserwowano zwierzęta z samodzielnym lub współistniejącym niedoborem Fe. Istotną informacją jest, że wszystkie krowy, u których występowały dwa lub więcej niedoborów mikroelementów we krwi leczyły się znacznie dłużej, niż zwierzęta z jednym problemem. Szczególnie zauważalne to było w przypadku odnotowanego niedoboru Cu i Fe u krów. W trakcie uzupełniania niedoborów zaobserwowano, że u wielu zwierząt podanie tylko preparatów zawierających żelazo nie przynosiło korzystnych efektów leczniczych lub efekty te były miernie wyrażone. Dopiero późniejsze opracowanie systemu opierającego się na wcześniejszym wyrównaniu niedoboru Cu u zwierząt, a następnie wyrównaniu Fe dało widoczne i szybkie efekty lecznicze. Ponadto równoczesne podawanie Fe i Cu zwierzętom powodowało, że efekty pojawiały się z reguły po nieznacznie dłuższym czasie, niż w przypadku rozpoczęcia wyrównywania

Cu. Wskazuje to na bardzo istotne znaczenie prawidłowego stężenia Cu w transporcie i przemianach Fe, im wyższe stężenie Cu w organizmie, tym szybciej i łatwiej wyrównywany jest niedobór Fe u krów. Autorów zaskoczył fakt, że w gospodarstwach hodowlanych odnotowano tak duży odsetek krów z niedoborem Fe, które dotąd łączone były ze zwierzętami młodymi (oseskami). Niestety, prowadzone badania nie ujawniły przyczyny tych niedoborów w gospodarstwach bydła mlecznego, szczególnie że badane próbki wody, paszy i dodatków mineralnych zawierały odpowiednią ilość tego mikroelementu. W obserwacjach własnych odnotowano także, że nieznaczne niedobory Zn mogą dawać atypowe objawy podobne do objawów zwiastunowych niedoboru Cu oraz zmiany przypominające obecność pasożytów zewnętrznych (świerzbowiec). Natomiast w bardziej zaawansowanych niedoborach tego mikroelementu zaobserwowano m.in. zmiany w obrębie racic przypominające zanokcicę lub stany zapalne szpary międzyracicznej i koronki, które słabo leczyły się przy użyciu terapii antybiotykowo/przeciwzapalnej. Wyrównanie niedoboru cynku skutkowało w takich przypadkach dość szybkim wygojeniem zmian, oczywiście z pozostałością uszkodzeń anatomicznych. Należy pamiętać, że najczęściej obserwowane objawy kliniczne niedoboru Zn, to: zmniejszenie lub brak apetytu (nieraz tylko okresowego), wylizywanie (sierści, łańcuchów, ziemi), spadek produkcji mlecznej, zaburzenia płodności, zmiany skórne w postaci łusek (szarych lub jasno brązowe), zgrubiała skóra w okolicy otworów nosowych, śluzawicy, gardła, na boku klatki piersiowej, w zgięciach stawów, na wymieniu, mosznie i ogonie, często podatność na grzybice skórne. Typowe zmiany związane z niedoborem cynku w przypadku stad badanych przez zespół właściwie nie występowały, z wyjątkiem pogrubienia skóry w miejscu otarć czy ucisku powodowanego przez łańcuchy, uwiązki, rurki w oborach wolnostanowiskowych oraz problemy z apetytem i produktywnością (dane niepublikowane, Lutnicki i wsp. 2017).

Podsumowując: należy pamiętać, że niedobory składników mineralnych mogą występować i stanowić problem u wszystkich gatunków zwierząt, są jednak szczególnie nasilone u prze-



zuwaczy. Wśród nich na pierwszym miejscu są osobniki wysokoprodukcyjne czyli w tym przypadku przede wszystkim krowy mleczne. Związane to jest nie tylko ze specyfiką użytkowości krow i produktywnością, ale także z systemem utrzymania zwierząt. Nierozdzielnie jest to także połączone z metodami przygotowania i zadawania paszy opartymi o system TMR czy PMR, z czym z kolei wiąże się również mieszanie pasz, zakiszanie, jakość surowca oraz błędy ludzkie przy przygotowaniu, przechowywaniu i zbieraniu paszy. Do tego wszystkiego dołożyć należy jeszcze miejsce wchłaniania składników mineralnych w organizmie krowy, co z kolei wynika ze specyficznej budowy przewodu pokarmowego krowy – przedżołądków. U bydła utrzymanie prawidłowej zawartości mikroelementów zależy nie tylko od prawidłowej suplementacji oraz występowania w podawanej paszy składników hamujących lub modyfikujących przyswajanie pierwiastków, ale także od wszystkich czynników opisanych powyżej. Stosowanie przez hodowców coraz chętniej prawidłowej, a nawet ukierunkowanej profilaktyki mikroelementów oraz precyzyjnego bilansowania dawki powoduje, że coraz częściej występują formy atypowe lub o chronicznym przebiegu, a rzadziej typowe postaci kliniczne niedoborów. Jednakże z powodu omawianych wcześniej czynników trudno wyeliminować do końca wszystkie rodzaje i formy niedoborów składników mineralnych. Dodatkowo obecnie coraz częstsze formy atypowe powodują konieczność stosowania rozszerzonych badań biochemicznych w celu postawienia jednoznacznej diagnozy. Wywiad i objawy kliniczne w tych przypadkach nie dają takiej możliwości. Podjęcie przez lekarza rozszerzonej o badania dodatkowe diagnozy podnosi koszty całej terapii, ale leczenie na przykład zaburzeń w układzie ruchu spowodowanych niedoborami składników mineralnych w oparciu tylko o środki przeciwbólowe i antybiotyki nie powinno mieć miejsca. 

Piśmiennictwo:

- Collins J.F., Prohaska J.R., Knutson M.D. 2010. Metabolic crossroads of iron and copper. *Nutr Rev*, 68: 133-47. DOI: 10.1111/j.1753-4887.2010.00271.x
- D'Angelo G. 2016. Copper deficiency mimicking myelodysplastic syndrome. *Blood Res.*, 51(4):217-219. DOI:10.5045/br.2016.51.4.217
- Fazio L.E., Mattioli G.A., Picco S.J., Rosa D.E., Minatel L., Gimeno E.J. 2010. Diagnostic value of copper parameters to predict growth of suckling calves grazing native range

Autorów zaskoczył fakt, że w gospodarstwach hodowlanych odnotowano tak duży odsetek krow z niedoborem Fe, które dotąd łączone były ze zwierzętami młodymi (oseskami). Niestety, prowadzone badania nie ujawniły przyczyny tych niedoborów w gospodarstwach bydła mlecznego, szczególnie że badane próbki wody, paszy i dodatków mineralnych zawierały odpowiednią ilość tego mikroelementu.

- in Argentina. *Pesq. Vet. Bras.*, 30:827-832. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2010001000004>
- Joerling J., Doll K. 2019. Monitoring of iron deficiency in calves by determination of serum ferritin in comparison with serum iron: A preliminary study. *Open Veterinary Journal*, 9(2), 177-184. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ovj.v9i2.14>
- Kaczmarek, B., Adaszek, Ł., Miętkowska, K. 2021. Wpływ niedoborów mineralnych na parametry czerwonokrwinkowe u bydła. *Medycyna Weterynaryjna*, 10, 480-483. doi: 10.21521/mw.6570
- Kurek Ł., Olech M., Lutnicki K., Riha T., Brodzki P., Gołyński M., Abramowicz B. 2017. Long-term subclinical copper deficiency and its influence on functions of parenchymal organs and the serum macro-element deficiency in dairy cows. *J. Elem.*, 22(4): 1415 - 1425. DOI: 10.5601/jelem.2017.22.1.1417
- Lazarchick J. 2012. Update on anemia and neutropenia in copper deficiency. *Curr Opin Hematol* 19: 58-60. DOI: 10.1097/MOH.0b013e32834da9d2.
- Lutnicki K., Sobiech P., Kurek Ł., Marozuk J. 2017. Choroby metaboliczne i niedobory mineralne u krow mlecznych. wyd. Elamed
- Mazzullo G., Rifici C., Cammarata F., Caccamo G., Rizzo M., Piccione G. 2014. Effect of different environmental conditions on some haematological parameters in cow. *Ann Anim Sci* 14: 947-954. DOI:10.2478/aoas-2014-0049
- Menzir A., Dessie D. 2017. Review on Copper Deficiency In Domestic Ruminants. *IJARP*, 1:101-110
- Mohammed A., Campbell M., Youssef F.G. 2014. Serum copper and haematological values of sheep of different physiological stages in the dry and wet seasons of central Trinidad. *Vet. Med. Int.*, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/972074>
- Perdrizet U., Blakley B., Al Dissi A. 2020. Concentrations and deficiencies of minerals in cattle submitted to a diagnostic laboratory in Saskatchewan from 2003-2012: A retrospective study. *Can Vet J*, 61:57-62.
- Radwińska J., Żarczyńska K. 2014. The effects of mineral deficiency on the health of young ruminants. *J. Elem.*, 19(3): 915-928, DOI: 10.5601/jelem.2014.19.3.620
- Roland L., Drillich M., Iwersen M. 2014. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. *JVDI* 26: 592-598. DOI: 10.1177/1040638714546490
- Wierzbička D., Gromadzka G. 2014. Ceruloplasmin, hephaestin and cytochrome b5: the three multicopper oxidases important for human iron metabolism. *PHMD*, 68, 912-924.
- Wysocka D., Snarska A., Sobiech P. 2020. Iron in cattle health. *J. Elem.*, 25(3): 1175 - 1185. DOI: 10.5601/jelem.2020.25.2.1960.



Eksperymentalny preparat ziołowo-fagowy

efekt jego oddziaływania w poprawie dobrostanu racic
krów mlecznych

**Renata Urban-Chmiel¹, Agnieszka Najda², Ewelina Pyzik¹, Rafał Stachura³, Piotr Hola⁴,
Marta Dec¹, Anna Nowaczek¹, Klaudia Herman¹**

¹ Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie; ² Katedra Warzywnictwa i Ziolarstwa, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie; ³ Agromarina Sp z o.o. Kulczyn-Kolonia 48, 22-235 Hańsk Pierwszy; ⁴ Gabinet Weterynaryjny „BO-VET” lek. wet. Piotr Hola, 22-234 Urszulin

W prezentowanych badaniach własnych opracowano eksperymetalny preparat zawierający wyciągi i olejki z roślin w połączeniu z wybranymi bakteriofagami. Badania są aktualnie w drugiej fazie realizacji

Kulawizny u bydła zostały sklasyfikowane jako wieloczynnikowe problemy zdrowotne występujące w stadach bydła mlecznego i mięsnego na całym świecie. Straty ekonomiczne wynikające z kosztów leczenia, obniżonych wskaźników produkcyjnych czy przedwczesnego wybrakowania krów, stanowią bardzo wysoki odsetek łącznych kosztów utrzymania. W krajach Unii Europejskiej średnie koszty są zależne od wprowadzanych programów prewencyjnych, np. w Holandii roczny koszt związany z kulawizną, to ok. 27 euro na krowę; na Węgrzech w roku 2005 wynosiły ok. 62 euro na krowę (Ózsvári, 2017). W USA roczne koszty kulawizn w przeliczeniu na krowę kształtują się na poziomie od 120 do 330 \$, a w stadach liczących 1000 krów – od 100 do 200 tysięcy dolarów rocznie (Liang i in., 2017).

Wśród czynników predysponujących do wystąpienia kulawizn istotną rolę odgrywają parametry zidentyfikowane na poziomie krowy m.in. poród, faza laktacji, masa ciała wraz z BCS oraz uwarunkowania genetyczne, w tym także rasowe (Vermunt i Greenough, 1994). W drugiej grupie są stresowe czynniki środowiskowe, jak:



fot. 1. System utrzymania krów w gospodarstwie, w którym prowadzono badania (fot. R. Urban-Chmiel)



pomieszczenia dla zwierząt, rodzaj systemów utrzymania, systemy podłogowe, warunki sanitarne, żywienie oraz sposób zarządzania stadem (Thorup i wsp., 2016, Urban-Chmiel i wsp. 2022). Przedłużający się dyskomfort, będący wynikiem objawów bólowych, niemożnością przyjęcia postawy fizjologicznej oraz ograniczeniem naturalnych zachowań zwierząt, przyczynia się do uruchamiania mechanizmów rozwoju chronicznej reakcji stresowej krowy, czego efektem jest wzrost aktywności kory nadnerczy i aktywacja produkcji oraz uwalniania stresowych hormonów sterydowych. Potwierdzeniem tych zmian jest obserwowany w wielu badaniach, w tym także prezentowanych badaniach własnych, istotny wzrost koncentracji tzw. markerów stresowych, szczególnie kortyzolu określanego także jako hormon stresu, który jednocześnie jest wskaźnikiem aktywności kory nadnerczy (tabela 1). Przykładem są m.in. wyniki uzyskane w badaniach

Bustamante i wsp. (2015), w których potwierdzono ponad dwukrotny wzrost koncentracji kortyzolu we krwi z 28,6 µg/L do 63,5 µg/L u krów z kulawizną, a także istotną zależność pomiędzy poziomem kortyzolu a stopniem kulawizny. Chroniczny stres u krów mlecznych w następstwie kulawizn może mieć istotny wpływ na zmiany w naczyniach krwionośnych łożyska ograniczając jego prawidłowe funkcjonowanie. Brak prawidłowej cyrkulacji krążenia prowadzi do niedotlenienia i kwasicy u płodu, czego rezultatem jest rodzenie słabych cieląt z obniżoną vitalnością, problemów z prawidłowym transferem odporności siarowej, co w późniejszym okresie przekłada się na obniżone fizjologiczne i zdrowotne wskaźniki dobrostanu cieląt, w tym obniżone przyrosty wagowe, zwiększoną wrażliwość na infekcje układu oddechowego i przeżycie pokarmowe oraz wyższą śmiertelność pourodzeniową (Hulbert i Moisés, 2016).

tab. 1. Przykładowe markery reakcji stresowej u krów mlecznych z objawami kulawizny.

oceniany parametr	krowy zdrowe	krowy z objawami kulawizny	P-value	piśmiennictwo
kortyzol ng/l	28.6	63.5	p < 0.001*	Bustamante i wsp. (2015) Kovács i wsp. 2015
metabolit kortyzolu w kale ng/g	40.4	54.5	0.3	
norepinefryna pg/ml	680.31	967.3	p < 0.001*	
β-endorfiny pg/mL	42.92	67.75	p < 0.001*	
DHEA ng/mL	1.52	2.35	p ≤ 0.001*	O'Driscoll i wsp. 2015
tętno	77.7	66.7	<0.001*	Kovács i wsp. 2015

tab. 2. Analiza wybranych markerów reakcji stresowej u krów z objawami kulawizny (badania własne)

oceniany parametr	krowy bez kulawizny (n=5)	krowy z objawami wrzodu podszwy (n=5)	krowy z objawami choroby białej linii (n=5)	krowy z objawami zapalenia skóry palców bądź szpary międzyracicowej (n=5)	krowy z kulawizną innej przyczyny (n=5)	krowy po korekcji racic (n=5)
kortyzol ng/mL	34.54 ±5.92	45.433 ±8.84*	46.6 ±12.38*	44.31 ±10.2*	48.13 ±7.8*	42 ±10.2
glukoza mmol/L	2.7 ±0.9	3.7 ±1.1	3.9 ±0.9	4.1 ±1.2*	4.6 ±0.8*	3.1 ±0.5

*różnice istotne statystycznie P≤0.05

Wykazany także w badaniach własnych (tabela 2) istotnie wyższy poziom kortyzolu i glukozy we krwi u krów z kulawizną może powodować inne zmiany wewnątrzustrojowe, np. neutrofilie lub zaburzenia w ekspresji genów związanych z apoptozą czy procesem zapalnym. Jakkolwiek, na podstawie przeprowadzonych badań, nie wykazano różnic istotnych statystycznie $P \leq 0.05$ w koncentracji kortyzolu w odniesieniu do rodzaju zdiagnozowanego problemu zdrowotnego.

Uzyskane wartości były zbliżone i różniły się istotnie wyłącznie u krów zdrowych.

Występowanie problemów zdrowotnych związanych z kończynami, któremu towarzyszą infekcje zapalne przekłada się na wzrost parametrów prozapalnych, w tym także białek ostrej fazy. Zwiększona koncentracja wybranych białek ostrej fazy (surowiczego amyloidu A i haptoglobiny) oraz wybranych cytokin u krów mlecznych z objawami kulawizny może być uzależniona od

tab. 3. Średnie wartości koncentracji wybranych wskaźników zapalenia u krów mlecznych z objawami kulawizny.

oceniany parametr	krowy zdrowe	krowy z objawami chorób racic				P-value	piśmiennictwo
		wrzód podeszwy	białej linii	zapalenie skóry palców lub szpary międzyracicowej	kulawizny		
SAA mg/L	8.8	32.4	26.5	34.9	-	0.001	Pirkkalainen i wsp. 2022
$\mu\text{g/mL}$	8.89				22.9		Bagga i wsp. 2016
haptoglobina mg/L	148	277	238	243	-	0.001	Bagga i wsp. 2016
$\mu\text{g/mL}$	1.17				21.71		
ng/mL	0.18				-		
fibrynogen mg/L	14	-	-	-	39.7	0.001	
IL-6 $\mu\text{g/L}$	16.6	15.8	13.8	12.4	-	-	Pirkkalainen i wsp. 2022
TNF- α pg/mL	5.2	-	-	-	28.2	0.0024	Herzberg i wsp. 2020
IL-1 β pg/mL	1.38	-	-	-	4.78	0.0339	
IL-13 pg/mL	5.6	-	-	-	11.16	0.0204	
IL-15	12.6	-	-	-	17.8	0.0401	
CXCL9	9.04	-	-	-	28.8	0.0252	
CXCL10	16.54	-	-	-	34.0	0.025	
IFN- α	16.7	-	-	-	69.14	0.0391	
IFN- γ	1.57	-	-	-	3.1	0.0027	
temp. rektalna $^{\circ}\text{C}$	38.5	38.7	38.5	38.6	-	-	Pirkkalainen i wsp. 2022



zdiagnozowanej choroby (Pirkkalainen i wsp. 2022). Przy czym najwyższy, istotny statystycznie wzrost badanych białek ostrej fazy występował w przypadku zdiagnozowania u krów mlecznych rasy HF oraz Estońskiej zapalenia skóry palców bądź szpary międzypaliczkowej. Szczegółowe informacje dotyczące koncentracji wybranych parametrów zapalnych u krów z objawami kulawizny przedstawiono w tabeli 3.

Wysokie koszty wynikające z obniżonej produkcji krów mlecznych, zwiększonej zachorowalności i śmiertelności cieląt od krów narażonych na chroniczny stres, którego podłożem są choroby kończyn, stwarzają podstawę do podejmowania działań wspomagających, ograniczających negatywne skutki kulawizny i poprawiających dobrostan zwierząt wysokoprodukcyjnych.

W prezentowanych badaniach własnych opracowano eksperymentalny preparat zawierający wyciągi i olejki z roślin w połączeniu z wybranymi bakteriofagami. Badania są aktualnie w drugiej fazie realizacji, dotychczas oceniono tzw. krótkoterminowy efekt działania preparatu na zwierzęta.

Do przygotowania preparatu, który na razie aplikowany jest do środowiska z przeznaczeniem do pielęgnacji i poprawy dobrostanu racic, wykorzystano koktajl bakteriofagów w połączeniu z wybranymi substancjami wspomagającymi pochodzenia roślinnego (złożony wniosek patentowy w grudniu 2021 r.). Preparat o nazwie „Fago-herb” (Z.539933) został opracowany w dwóch postaciach:

- zawiesiny do kąpieli racic dla krów mlecznych z objawami kulawizny oraz krów zdrowych,
- zawiesiny do rozpylania na podłogi (system ściółkowy oraz bezściółkowy).

Preparat zawiera:

- Zawiesiny lizatów bakteriofagowych swoistych dla bakterii *E. coli*: L26, L27, L29 i *Staphylococcus spp.* 10^{-9} - 10^{-12} PFU/mL zwieszone w buforze TM.
- Olejek eteryczny z liści czarnej mięty pieprzowej oraz ekstraktami bergamotki i roślin *Mentha x piperita L. var. officinalis* Sole fa. *rubescens* Camus i *Mentha x piperita L. var. citrata* (Ehrh.) Briq, cynamon w stosunku 1:4 (1 część zawiesiny fagów, 3 części oleju i ekstrakt z cynamonu) (patent nr P. 436553, Urban-Chmiel i wsp. 2020).

Należy podkreślić, że sam preparat nie ma formuły zamkniętej, co oznacza, że koktajle fagowe mogą być modyfikowane i uzupełniane np. o fagi izolowane z konkretnego środowiska utrzymania zwierząt.

Podczas oceny krótkotrwałego efektu oddziaływania eksperymentalnego preparatu fagowo-ziołowego krowy mleczne z objawami kulawizny oraz nie wykazujące oznak kulawizny przechodziły 3 razy dziennie przez baseny wypełnione preparatem przez 8 dni. Od zwierząt pobierano krew, a także oceniano wybrane parametry fizjologiczne, behawioralne i produkcyjne, m.in. CTO, a także zawartość wybranych wskaźników w mleku np. LKS.

Analizę statystyczną przeprowadzono w oparciu o analizę wariancji ANOVA. W celu szczegółowej identyfikacji efektu oddziaływania preparatu na wybrane parametry immunologiczno-zapalne wykorzystano testy Post-hoc z wykorzystaniem testu Tukey'a. Natomiast do oceny porównawczej w zakresie istotności różnic w poszczegól-



fot. 2. Przykład preparatu fagowo-ziołowego do pielęgnacji i poprawy dobrostanu racic u bydła (fot. R. Urban-Chmiel).



nych dniach eksperymentu wykorzystano test analizy liniowej drzew klasyfikacyjnych zaproponowanej przez Pikkalainen et al. (2022).

Wyniki

Przeprowadzone badania *in vitro* potwierdziły 100% efekt antybakteryjny w stosunku do bakterii wyizolowanych z klinicznych przypadków kulawizny u krów mlecznych w warunkach *in vitro* (Stachura i wsp. 2022)

Z kolei w badaniach *in vivo* wykazano korzystne efekty krótkoterminowe zastosowanego preparatu u krów mlecznych, które przejawiały się m.in.:

Poprawą wyglądu oraz stanu racic – bardziej wytrzymałe, błyszczące, mniej kruche.

Widocznym efektem osłabienia objawów u krów bezpośrednio po korekcji racic, która manifestowała się zwiększeniem częstotliwości podchodzenia krów do stołu paszowego:

- krowy zdrowe – 12 razy w czasie 2 godzin.
- krowy kulawe >3 stopień kulawizny – 6 razy w ciągu 2 godzin.
- Krowy przepuszczone przez basen z preparatem fagowo-ziółowym przez min. 8 dni 3 x dziennie podchodziły do stołu paszowego 8 razy w czasie 2 godzin.

Wydłużenie czasu spędzanego przy stole paszowym (czasu przeżuwania o ok. 3-5 min). Ponadto obserwowano zmiany w zakresie parametrów związanych z czasem przeżuwania oraz liczbą komórek somatycznych, przy czym nie były one w większości istotne statystycznie (tabela 4).

tab. 4. Średnie wartości wybranych parametrów fizjologicznych u krów po działaniu preparatu eksperymentalnego „Fago-herb”

ocenywany parametr	krowy				
	zdrowe 10 szt.	z objawami kulawizny ≥3 stopnia (15 szt.)	z objawami kulawizny po działaniu preparatu (10 szt.)	bezpośrednio po korekcji racic (10 szt.)	bezpośrednio po korekcji racic po działaniu preparatu (10 szt.)
temp. rektalna (°C)	38.7±0.5	40.1±0.7*	39.9±0.6	39.1±0.4	38.9±0.5
średni czas przeżuwania (min.)	~520	~390-400	~420	~490	~495-500
koncentracja kortyzolu (ng/mL)	34.54±5.92	67.12±8.26	59.45±7.98	49.45±10.2	37.29±5.9*
koncentracja glukozy (Mmol/L)	2.7±0.9	3.9±2.1	3.6±1.4	3.4±0.8*	2.9±0.5
koncentracja białka całkowitego (g/L)	69.9±6.4	95.6±9.2*	87.9±12.9*	85.5±7.2*	79.4±7.9
poziom albumin (g/L)	32.1±5.9	39.3±7.6	32.4±5.4	33.2±4.9	31.9±5.5
LKS tys/mL	279±75	520±89*	490±72*	390±74	320±59

*różnice istotne statystycznie p≤0.05



Ponadto, w efekcie 8-dniowej ekspozycji krów na zastosowany preparat jako środek do kąpie-li racie dodawany bezpośrednio do basenów, zaobserwowano zdecydowanie wyższą chęć przechodzenia przez baseny ze środkiem, dłuższy czas przebywania w basenach, jak również większą aktywność krwi bezpośrednio po opuszczeniu basenu.

Dotychczasowa analiza wybranych parametrów immunologicznych pozwoliła ocenić korzystny wpływ zastosowanego działania prewencyjnego na parametry zapalne i stresowe, m.in. zmiany w koncentracji haptoglobiny, surowiczego amyloidu A oraz poziomu kortyzolu, a także wybrane cytokiny m.in. IL15 oraz IL 13. Przy czym wartości koncentracji IL 13 nie były istotne statystycznie. Przykładowy obraz zmian w koncentracji Hp mg/mL oraz SAA ng/mL w oznaczonych jednostkach czasowych u krów mlecznych uczestniczących w eksperymencie przedstawiono na rycinie 1 i 2.

Analiza koncentracji haptoglobiny i surowiczego amyloidu A u krów z objawami kulawizny, które przechodziły 3 x w ciągu dnia przez basen zawierający eksperymentalny preparat fagowo-ziołowy wykazała obniżenie wartości obu białek ostrej fazy w trzecim tygodniu doświadczenia. Jakkolwiek, uzyskane wartości, pomimo znacznych różnic w wartościach bezwzględnych, nie

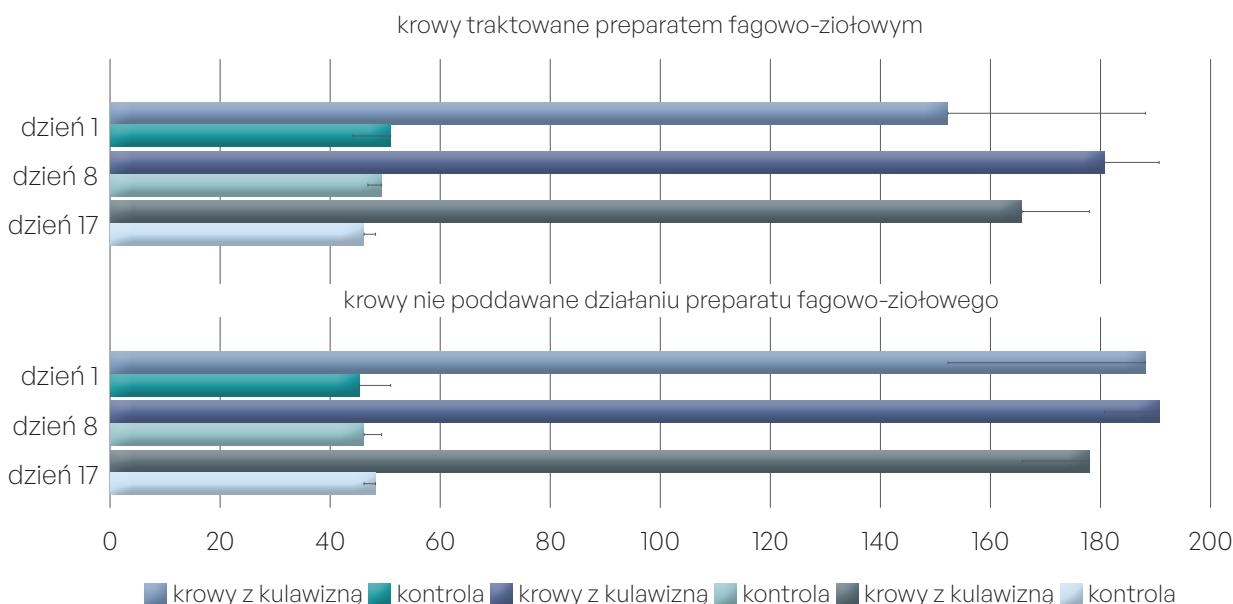
były istotne statystycznie w porównaniu do wartości obserwowanych u krów z objawami kulawizny nie poddawanych działaniu preparatu (ryc. 1, 2). Obserwowany wysoki rozrzut pomiędzy uzyskanymi wartościami w zakresie od 99 do 289 mg/mL w przypadku Hp oraz 9 do 90 ng/mL dla SAA w poszczególnych grupach zwierząt istotnie utrudnia właściwą analizę statystyczną. Dlatego kalkucje przy użyciu kolejnych testów bioinformatycznych będą przedmiotem kolejnego etapu prowadzonych badań.

Należy podkreślić, że badania są nadal kontynuowane w zakresie oceny efektu długoterminowego u krów mlecznych, co uniemożliwia na obecnym etapie przedstawienie wszystkich ocenianych parametrów. Pełna analiza oddziaływania eksperymentalnego preparatu w zakresie dobrostanu krów mlecznych będzie możliwa po zakończeniu całego eksperymentu.

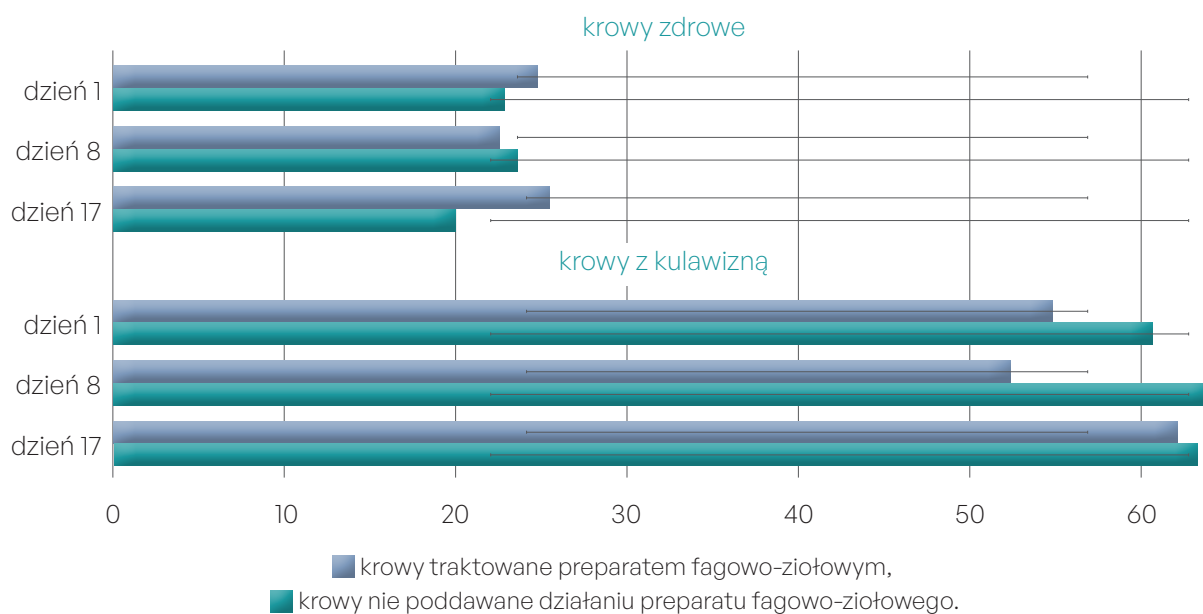
Wnioski

1. Krowy wysokoprodukcyjne wykazują zwiększoną predyspozycję do występowania chorób objawiających się kulawizną, która odgrywa istotną rolę w zaburzeniach parametrów fizjologicznych, zdrowotnych i produkcyjnych.
2. Zmiany procesów fizjologicznych, zwłaszcza w zakresie stymulacji stresu i reakcji zapal-

ryc. 1. Zmiany w koncentracji surowiczego poziomu haptoglobiny (Hp mg/mL) u krów z objawami kulawizny oraz z grup kontrolnych.



ryc. 2. Zmiany koncentracji surowiczego amyloidu A (SAA ng/mL) u krów z objawami kulawizny oraz z grup kontrolnych.



nych u ciężarnych krów, wpływają również pośrednio na parametry dobrostanu cieląt, co może skutkować zaburzeniami w prawidłowym dojrzewaniu płodu i przekazywaniu odporności siarowej u nowonarodzonych cieląt.

3. Stosowanie ekologicznych i w pełni przyjaznych preparatów wspomagających pielęgnację kończyn, poprawiających ich dobrostan może znacznie ograniczyć negatywne skutki wynikające z występowania kulawizny i zwiększonej wrażliwości krów mlecznych.

Piśmiennictwo:

1. Bustamante H.A., Rodríguez A.R., Herzberg D.E. Werner, M.P. Stress and pain response after oligofructose induced-lameness in dairy heifers. *J. Vet. Sci.* 2015, 16, 405.
2. Hulbert L.E., Moisé S.J. Stress, immunity, and the management of calves. *Journal of Dairy Science* 2016, 99, 3199-3216.
3. Kovács L., Kézér F.L., Jurkovich V., Kulcsár-Huszenicza M., Tózsér J. Heart Rate Variability as an Indicator of Chronic Stress Caused by Lameness in Dairy Cows. *PLoS ONE*, 2015, 10(8): e0134792.
4. Liang, D., Arnold, L.M., Stowe, C.J., Harmon, R.J., Bewley, J.M. 2017. Estimating US dairy clinical disease costs with a stochastic simulation model. *Journal of Dairy Science*, 100, 2, 1472-1486.
5. Ózsvári L. 2017 Economic cost of lameness in dairy cattle herds. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*. 2017;6(2):283-289.
6. O'Driscoll K., McCabe M., Earley B. Differences in leukocyte profile, gene expression, and metabolite status of dairy cows with or without sole ulcers. *J Dairy Sci.* 2015, 98, 1685-95.
7. Pirkkalainen H., Talvio I., Kujala-Wirth M., Soveri T., Orro T. Acute phase response of sole ulcer, white line disease and digital dermatitis in dairy cows, *Veterinary and Animal Science*, 2022, 17, 100253.
8. Stachura, R., Urban-Chmiel, R., Najda, A., Balant, S., Hola, P., Dec, M., Pyzik, E., Nowaczek, A., Puchalski, A.: The use of an experimental phage preparation with plant extracts in the prevention of lameness in dairy cows. XXI Middle European Buiatrics Congress 19-22.05.2022 Stare Jabłonki, Poland Congress Proceedings s. 142-143. Stare Jabłonki, 2022.
9. Thorup V.M., Nielsen B.L., Robert P.E., Giger-Reverdin S., Konka J., Michie C., Friggens N.C. Lameness Affects Cow Feeding But Not Rumination Behavior as Characterized from Sensor Data. *Front. Vet. Sci.* 2016, 3: 37.
10. Urban-Chmiel R., Najda A., Dec M., Puchalski A., Nowaczek A., Marek A., Pyzik E., Stępień-Pysniak D., Balant S. Sposób otrzymywania kompozycji do leczenia lub profilaktyki chorób kończyn manifestujących się objawami kulawizny, w szczególności u bydła oraz kompozycja do leczenia lub profilaktyki chorób kończyn manifestujących się objawami kulawizny, w szczególności u bydła. UPRP 29.12.2020r. P.436553.
11. Urban-Chmiel R., Stachura R., Hola P., Pyzik E., Dec M., Nowaczek A., Puchalski A., Herman K. Efekty oddziaływania eksperymentalnego preparatu ziołowo-fagowego do pielęgnacji racic u krów mlecznych jako możliwości poprawy dobrostanu cieląt. *Lecz. Dużych Zwierząt* 2022 nr 1, Konferencja naukowa: Nowe rozwiązania w ochronie zdrowia cieląt, 1-2 grudnia 2022, Wrocław s. 42-49, Monografia – ISBN 978-83-947967-7-8.



Podstawy naukowe i zastosowania praktyczne przeciwciał na błony śluzowe u cieląt

Tadeusz Stefaniak, Joanna Bajzert, Paulina Jawor, Anna Rzęsa

Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

O randze zabezpieczenia swoistego błon śluzowych świadczy choćby silnie rozbudowany układ odpornościowy błon śluzowych, będący największym skupiskiem komórek układu immunologicznego w organizmie i zapewniający barierę dla ponad 90% potencjalnych patogenów.

Biegunki cieląt to jeden z najważniejszych problemów zdrowotnych do 90. dnia życia (Svensson i wsp. 2003). Znaczenie ekonomiczne biegunki wynika z kosztów leczenia, zmniejszonych przyrostów masy ciała, ale też zwiększonej podatności na inne choroby, spadku liczby jałówek przydatnych do rozrodu (Haława and Stefaniak 2002, Furman et al. 2011).

Błony śluzowe układu pokarmowego i oddechowego są głównym miejscem kontaktu organizmu ze środowiskiem zewnętrznym, w tym z potencjalnymi patogenami (Chase i Kaushik 2019). Ich powierzchnia jest około stukrotnie większa od powierzchni skóry. Naturalne mechanizmy ochrony błon śluzowych, jak: lepkość śluzu, niskie pH soku żołądkowego czy wysokie pH soku jelitowego, wydzielanie przez komórki nabłonka peptydów antybakteryjnych oraz obecność ruchów perystaltycznych jelit, klirens dróg oddechowych, mają na celu ograniczanie kolonizacji błon śluzowych przez drobnoustroje patogeniczne. Utrzymanie zdrowia zależy od funkcji błon śluzowych oraz współpracy mechanizmów odporności wrodzonej i nabytej. Kluczową rolę w ochronie błon śluzowych jako pierwszej bariery zabezpieczającej przed patogenami odgrywa układ odporności błon śluzowych (MALT, (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue). Komórki immunologiczne chroniące przewód pokarmo-

wy zlokalizowane są w tkance określonej jako tkanka limfatyczna związana z jelitem (GALT, Gut-Associated Lymphatic Tissue). W układzie oddechowym można wyróżnić dwie takie lokalizacje: chroniącą nos i okolice (NALT, Nose-Associated Lymphatic Tissue) oraz chroniące oskrzela i płuca (BALT, Bronchi-Associated Lymphatic Tissue). O randze zabezpieczenia swoistego błon śluzowych świadczy choćby silnie rozbudowany układ odpornościowy błon śluzowych, będący największym skupiskiem komórek układu immunologicznego w organizmie i zapewniający barierę dla ponad 90% potencjalnych patogenów (Chase i Kaushik 2019). W tym systemie znajduje się ponad dwukrotnie więcej komórek produkujących przeciwciała, niż w pozostałych częściach układu immunologicznego (Mestecky i wsp. 1991). Obok mechanizmów odporności wrodzonej, głównym mechanizmem odporności swoistej błon śluzowych jest rozpoznawanie patogenów i sekrecja przeciwciał klasy IgA. Bezpieczeństwo błon śluzowych noworodków do czasu rozpoznania patogenów obecnych w środowisku i powstania własnej, czynnej odporności swoistej, w największym stopniu zależy od ochrony uzyskanej od matki drogą siary (Stefaniak i wsp. 2011, Stefaniak i wsp. 2012). Jeżeli błony śluzowe noworodka zostaną szybciej zasiedlone przez drobnoustroje chorobotwór-



cze niż przez przeciwciała uzyskane od matki, to dojdzie do wystąpienia zachorowań (Besser i wsp. 1988).

Powszechnie występujący problem niedoboru odporności siarowej (FPT) u cieląt ras mlecznych powoduje, że także błony śluzowe przewodu pokarmowego i oddechowego są gorzej chronione przez przeciwciała pochodzące z siary. To zwiększa ryzyko strat na tle infekcji nie tylko w okresie neonatalnym, ale też w późniejszych okresach wzrostu młodych zwierząt. Badania poświęcone ochronie przewodu pokarmowego przed infekcyjnymi czynnikami biegunkotwórczymi wskazują, że stosownie do okresu największego ryzyka, należy dążyć do zapewnienia w tym czasie dostarczania na błony śluzowe dodatkowych przeciwciał, które wzmocnią ochronę błony śluzowej (Stefaniak 2006).

Sposoby dostarczania przeciwciał na błony śluzowe muszą być dostosowane do specyfiki chronionych błon, ale także mechanizmów odporności, z których mogą korzystać cielęta. A te mechanizmy różnią się, w zależności od wieku. W okresie pierwszych kilku tygodni życia głównym sposobem wzmacniania lokalnej odporności błon śluzowych jest immunizacja bierna, która powinna chronić cielęta tak długo, aż wytworzone zostaną efektorowe mechanizmy czynnej odpowiedzi immunologicznej (Stefaniak i wsp. 2012).

Okres występowania największych strat powodowanych przez biegunki infekcyjne cieląt przypada właśnie na pierwsze 3 tygodnie ich życia. To powoduje, że sposobem wzmacniania ochrony błon śluzowych musi pozostać immunizacja bierna, ponieważ aby uzyskać wystarczający pułap odporności czynnej od rozpoczęcia szczepienia musi minąć przynajmniej 4-6 tygodni. Szczepienie (immunizacja czynna) cieląt noworodków dla ochrony przed biegunkami okresu neonatalnego byłoby więc nieefektywne, bo właściwy poziom ochrony powstałby już po okresie największego ryzyka występowania biegunek.

Swoista ochrona błony śluzowej układu pokarmowego

U cieląt okresy największego zagrożenia biegunkami tła infekcyjnego zależą od cech pato-

genów. Stosownie do nich największe ryzyko biegunek związane ze szczepami enterotoksycznymi *Escherichia coli* przypada na pierwsze 3-5 dni życia, z rotawirusami między 4-10 dniem, z koronawirusami 10-30 dniem, kryptosporidiami 7-14, biegunki powodowane przez salmonelle występują zwykle między 7-21 dniem życia. Warto przy tym zauważyć, że często stwierdzamy więcej niż jeden czynnik patogenny. Co więcej, pierwotną przyczyną biegunek mogą być czynniki nieinfekcyjne, zwykle wynikające z błędów w żywieniu cieląt. Z powyższego zestawienia wynika, że większość infekcyjnych przyczyn zagraża powstawaniem biegunek do 3. tygodnia życia cieląt. Kolejnym okresem pojawiania się biegunek są pierwsze tygodnie po przeniesieniu cieląt z obory/budek/profilaktorium do cielętnika. Jakkolwiek w tym okresie pierwotnymi przyczynami są zwykle błędy w karmieniu cieląt, to czynniki infekcyjne mogą się dołączać do procesu patologicznego (Gąsowska i wsp. 2001).

Na polskim rynku leków jest dostępnych kilka szczepionek wieloważnych, wzbudzających odporność przeciw enterotoksycznym szczepom *E. coli*, rota- i koronawirusom. Są one przeznaczone dla krów wysokocielnych, a celem szczepienia jest uzyskanie znaczącego (kilkudziesięciokrotnego) wzrostu stężenia przeciwciał przeciw antygenom szczepionkowym w siarze. Obserwacje terenowe wskazują jednak, że nawet bardzo dobre zabezpieczenie cieląt odpornością siarową może nie wystarczyć do ochrony przed biegunkami infekcyjnymi. Problem wynika z faktu, że mleko krowy, w przeciwieństwie do siary, zawiera bardzo niskie stężenie przeciwciał, a przedostawanie się przeciwciał wchłoniętych z siary do krwi na nieuszkodzone błony śluzowe jest procesem umiarkowanie intensywnym (Besser i wsp. 1988), mogącym nie wystarczyć do zapobieżenia inwazji na błonę śluzową, jeśli dojdzie do zainfekowania przewodu pokarmowego cielęcia większą ilością drobnoustrojów patogennych. Przyczyna tkwi w tym, że te przeciwciała należą głównie do klasy IgG₁, która może przenikać na błony śluzowe tylko między komórkami nabłonka. Z kolei ilość przeciwciał klasy IgA uzyskanych drogą siary, które mogą być transportowane czynnie poprzez komórki nabłonka, jest stosunkowo niska. Zwiększony przepływ przeciwciał z osocza na błonę śluzową



następuje dopiero po jej uszkodzeniu, wraz z wysiękiem zapalnym. Te fakty skłaniają do zweryfikowania poglądów na temat skuteczności odporności siarowej. Warto tu dodać, że znaczny odsetek cieląt ras mlecznych nie uzyskuje satysfakcjonującego stężenia immunoglobulin po wypiciu siary, co przekłada się także na gorszą ochronę błon śluzowych.

Z powyższych powodów można założyć, że wskazane jest dodatkowe zabezpieczenie przeciwciałami błony śluzowej przewodu pokarmowego cieląt w okresie największego ryzyka biegunek. W tabeli 1. podano najczęstsze drogi wzmacniania ochrony przewodu pokarmowego. Bardzo cennym źródłem przeciwciał w fermach bydła mlecznego jest siara/mleko przejściowe z pierwszych 4-6 dojów, pozostała po pojeniu cieląt w pierwszych paru dniach życia. Jej nadmiar jest często niewykorzystany, podczas gdy bardzo dobrym sposobem jest mieszanie siary, pozostałej z tych dojów po napojeniu cieląt nowonarodzonych i dodawanie jej w objętości około 10% do mleka/preparatu mlekozastępczego, stosowanego w pojeniu cieląt w wieku 4-21 dni. Przeciwciała siarowe dość długo wytrzymują trawienie w przewodzie pokarmowym i wzmacniają jego ochronę przed czynnikami patogennymi. Tej metody nie można jednak

zastosować w stadach zakażonych *Mycobacterium avium v. paratuberculosis*, ze względu na ryzyko rozprzestrzenienia zakażenia wśród cieląt. W takich stadach metodą z wyboru może być dodawanie przeciwciał żółtka jaja (IgY) od kur immunizowanych patogenami przewodu pokarmowego cieląt (Sitnik i wsp. 2013). Dwukrotna immunizacja podskórna kur niosek antygenami drobnoustrojów najczęściej powodujących biegunki infekcyjne u cieląt (enterotoksyczne *E. coli*, rotawirusy i koronawirusy) spowodowała wzrost i utrzymywanie się przeciwciał przez wiele tygodni nieśności (Sitnik i wsp. 2013). Zespół pracowników Akademii Rolniczej we Wrocławiu i Zakładów Jajczarskich OVOPOL w Nowej Soli opracował procedurę pozyskiwania immunoglobuliny żółtka jaja (IgY) na skalę przemysłową (patent P-332756) (Stefaniak i Kopeć 1997). W uzyskanych preparatach wykazano (Stefaniak i wsp. 2004) istotną aktywność przeciwciał reagujących z antygenami patogenów przewodu pokarmowego (*Escherichia coli* O-157, *Klebsiella pneumoniae*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*). Używanie przeciwciał z jaj od kur immunizowanych jest dzisiaj najbardziej efektywnym finansowo sposobem produkcji przeciwciał, pozwalającym na uzyskiwanie skali produkcji niedostępnej metodami alternatywnymi.

tab. 1. Sposoby doustnego podawania przeciwciał dla ochrony przewodu pokarmowego (za Stefaniak 2006).

metoda	opis
zmieszane z paszą	<ul style="list-style-type: none"> • zalety: młode zwierzęta zwykle jedzą do woli i mają stały dostęp do paszy; pasza zawierająca Ig jest smaczniejsza, co poprawia przyrosty • wady: w pierwszych tygodniach życia cielęta pobierają niewielkie ilości pasz treściwych, chore zwierzęta nie jedzą, stąd brak roli ochronnej
dodatek do siary, mleka lub preparatu mlekozastępczego	zwykle stosowane u cieląt, źrebiąt, jagniąt i koźląt <ul style="list-style-type: none"> • zalety: łatwe i szybkie podawanie, dokładne dawkowanie • wady: preparat jest zwykle podawany dwa razy dziennie, co może powodować znaczne wahania w koncentracji Ig (efektywności ochronnej) w świetle przewodu pokarmowego
w kapsułkach	<ul style="list-style-type: none"> • zalety: precyzyjne dawkowanie, ochrona immunoglobulin przed niskim pH żołądka • wady: konieczna dodatkowa aktywność obsługi
doustne podawanie skoncentrowanego roztworu	<ul style="list-style-type: none"> • zalety: precyzyjne dawkowanie • wady: konieczna dodatkowa aktywność obsługi



Obok doustnego podawania przeciwciał, w zapobieganiu biegunkom pomocna okazała się też aplikacja surowicy odpornościowej uzyskanej od krów hiperimmunizowanych antygenami biegunkotwórczych szczepów *Escherichia coli* i rotawirusów (Bresciani i wsp. 2016). Dzięki jednokrotnemu podaniu dożylnie 300 ml tej surowicy cielętom w wieku 30–48 godzin znacznie zmniejszono ryzyko zachorowań, a w efekcie zużycie antybiotyków.

Układ oddechowy

Choroby infekcyjne układu oddechowego cieląt ras mlecznych przynoszą największe straty w wieku od 3.–4. tygodnia do 5.–6. miesiąca życia. Szczególnie zachorowania pojawiające się we wczesnej fazie okresu podatności są trudne do opanowania, gdyż przeciwciała siarowe są już w znacznym stopniu zużyte, a dopiero od wieku 4. tygodni można liczyć na oczekiwane efekty podskórnej/domięśniowej immunizacji czynnej. Cielęta przeżywają w tym czasie tzw. „siodło immunologiczne”, gdy z jednej strony wyczerpuje się ochrona uzyskana z siarą, a z drugiej strony dopiero można rozpoczynać immunizację czynną. Na powstanie odporności skutecznie chroniącej przed zachorowaniem trzeba więc poczekać kolejne 4–6 tygodni (2. dawki szczepienia + czas potrzebny na rozwój odpowiedzi wtórnej). Sytuacja staje się jeszcze gorsza, gdy cielę cierpiało z powodu niedoboru odporności siarowej. Te dwie okoliczności (niedobór odporności siarowej i okres „siodła immunologicznego”, kiedy zwykle cielęta są przenoszone do cielętnika) stanowią wskazanie do profilaktycznego zastosowania surowicy odpornościowej. Ta ostatnia okoliczność, a także sprzedawanie cieląt buhajków do opasu w innych gospodarstwach, to momenty zwiększonego ryzyka zachorowań układu oddechowego, kiedy warto wzmocnić odporność bierną cieląt przez podanie surowicy odpornościowej. Stres związany z transportem, adaptacją do nowych warunków dodatkowo zwiększa podatność zwierząt na infekcje. Można założyć, że przeciwciała podane w surowicy powinny zabezpieczać cielęta przez około 2 tygodnie od iniekcji. Skuteczność takiej seroprofilaktyki zależy oczywiście od tego, czy podana surowica zawiera

odpowiednią ilość przeciwciał, przeciw aktualnym patogenom. Innym zagadnieniem jest adekwatność dawki surowicy (rekomendowane dawki wahają się od 20–100 ml). Jeśli surowica odpornościowa została wyprodukowana na bydle, dawka może zostać powtórzona zarówno profilaktycznie, jak i w razie potrzeby leczniczo (w tym ostatnim przypadku rekomendowane są dawki nawet 150 ml jednorazowo). W kolejnych tygodniach można podjąć szczepienie zwierząt odpowiednio dobraną szczepionką, w ramach programu immunoprofilaktyki bierno-czynnej (Stefaniak i wsp. 1994, Haława i Stefaniak 2002). Do lat 90. XX wieku na naszym rynku leków występowało kilka preparatów przeciwciał (surowice odpornościowe/gammaglobulina) dedykowanych cielętom (Bovicolin, Boviglobin, Somnubovin), jednak stopniowo zostały wycofane. Obecnie na rynku północnoamerykańskim są dostępne wieloważne surowice odpornościowe uzyskane przez immunizację dawców bakteriami (*Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*, *Actinomyces pyogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*), sprzedawane równolegle przez kilka firm farmaceutycznych (Stefaniak i wsp. 2019). Brak obecnie takich rozwiązań w Europie, a wysokie koszty rejestracji, przy dość niskiej opłacalności surowic odpornościowych w porównaniu do np. produkcji antybiotyków sugerują, że raczej nie będzie wielu chętnych, aby przywrócić takie leki na rynek. Podskórna droga podania surowic odpornościowych jest stosowana najczęściej u cieląt. Wieloletnie badania Zespołu Wrocławskiego na modelu infekcji *Histophilus somni* (wcześniej *Haemophilus somnus*) potwierdziły wysoką wartość ochronną surowicy odpornościowej uzyskanej przez immunizację pełnymi komórkami *H. somni* i podawanej podskórnie (Zieliński 1988, Haława i Stefaniak 2002). Ta surowica została zarejestrowana w 1990 roku jako Somnubovin i była produkowana do końca lat 90. przez Pro Animal sp. z o.o., pierwszą spin-off spółkę ówczesnej Akademii Rolniczej we Wrocławiu, z udziałem pracowników naukowych jako współników. Obecnie w badaniach własnych do immunizacji bydła-dawców surowicy odpornościowej wykorzystywane są dwa antygeny rekombinowane (rHsp60 i rOMP40 *H. somni*), które cechują się dużym podobieństwem do



podobnych antygenów innych bakterii Gram-ujemnych i wzbudzają odporność nie tylko przeciw *H. somni*, ale i innym patogenom Gram-ujemnym. W badaniach Zespołu udało się potwierdzić wysoką skuteczność ochronną tak uzyskanej surowicy odpornościowej w zastosowaniu profilaktycznym i leczniczym w chorobach układu oddechowego cieląt.

Ciekawym zagadnieniem wymagającym dalszych badań jest poszukiwanie nowych sposobów aplikacji przeciwciał na drogi oddechowe cieląt. Podaż podskórna pozwala bowiem na przedostanie się na błony śluzowe nie więcej, niż 10% podanych przeciwciał.

Podsumowanie

Wczesny wiek cieląt, w którym cierpią z powodu chorób układu pokarmowego i oddechowego, stanowi wskazanie do stosowania przeciwciał w immunoprofilaktyce biernej i leczeniu infekcji. Niestety, w ostatnich dziesięcioleciach otwarcie dostępu do antybiotyków spowodowało zaniechanie/ograniczenie użycia przeciwciał, w tym surowic odpornościowych. Europejskie porozumienie, mające na celu ograniczenie stosowania antybiotyków w chowie zwierząt, może sprzyjać wdrożeniu nowoczesnych rozwiązań wzmacniających naturalne systemy obrony błon śluzowych. Podawanie przeciwciał na błony śluzowe wydaje się być atrakcyjnym sposobem ochrony zdrowia cieląt. 🐮

Piśmiennictwo:

- Besser T.E., McGuire T.C., Gay C.C., Pritchett L.C. Transfer of Functional Immunoglobulin G (IgG) Antibody into the Gastrointestinal Tract Accounts for IgG Clearance in Calves. *J. Virology* 62, 2234-2237, 1988.
- Bresciani C., Sabbioni A., Ciampoli R., Bertocchi M., Saleri R., Cabassi C.S., Bigliardi E., Di Ianni F., Parmigiani E.: An innovative hyperimmune bovine plasma for prophylaxis and therapy of neonatal dairy calf diarrhea – a clinical trial. *Large Animal Review* 22, 115-119, 2016.
- Chase C., Kaushik R.S. Mucosal Immune System of Cattle: All Immune Responses Begin Here. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 35, 431-451, 2019.
- Furman-Fratczak K., Rząsa A., Stefaniak T. The influence of colostrum immunoglobulin concentration in heifer calves' serum on their health and growth. *J. Dairy Sci.* 94, 5536-5543, 2011.
- Gąsowska A., Stefaniak T., Kopeć W.: Wstępne wyniki zastosowania immunoglobuliny żółtka jaja dla ochrony cieląt przenoszonych do cielętnika. *Folia Univ. Agric. Stetin.* 225 Zootechnica 43, 45-48, 2001.
- Haława W., Stefaniak T.: Ocena ekonomiczna wprowadzenia programu bierno-czynnej immunoprofilaktyki infekcji *Haemophilus somnus* w warunkach terenowych. w „Problemy zdrowia narządu oddechowego młodych zwierząt gospodarskich” red. T. Stefaniak, Wrocław 2002, str. 121-137.
- Mestecky J., Lue C., Russell M.W. Selective transport of IgA. *Cellular and molecular aspects. Gastroenterol. Clin. North. Am.* 20, 441-471, 1991.
- Sitnik O., Jawor P., Kopeć W., Skiba T., Stefaniak T.: Production and characterization of egg yolk antibodies against bovine alimentary tract pathogens. *Pol. J. Vet. Sci.* 16, 283-291, 2013.
- Stefaniak T.: Control of intestinal diseases by dietary supplementation with antibodies. w Mosenthin R., Zentek J., Żebrowska T.(ed.): *Biology of Nutrition in Growing Animals.* Elsevier, Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St. Louis, Sydney, Toronto 2006, 285-309.
- Stefaniak T., Balbierz H., Chełmońska-Soyta A., Molenda J., Nowacki W., Nikołajczuk M.: Program immunoprofilaktyki infekcji *Haemophilus somnus* u bydła. *Życie Weterynaryjne* 69, 246-249, 1994.
- Stefaniak T., Chełmońska-Soyta A., Leibold W.: Odporność noworodków, [w:] Skrzypczak W., Stefaniak T., Zabielski R. (red.): *Fizjologia noworodka z elementami patofizjologii.* PWRiL, Warszawa 2011, 145-181.
- Stefaniak T., Chełmońska-Soyta A., Bajzert J., Jawor P., Rząsa A., Sitnik O.: Rozwój układu odpornościowego u przeżuwaczy w okresie pre- i postnatalnym. *Med. Weter.* 68, 534-539, 2012.
- Stefaniak T., Galli J., Jawor P., Rząsa A.: Strategie wspomagania odporności cieląt. W: „Noworodek a Środowisko (część 4) Problemy cieląt i krów” red. T. Stefaniak. Zakład Prewencji i Immunologii Weterynaryjnej UP we Wrocławiu 2008, ss.203-212.
- Stefaniak T., Jawor P., Bajzert J., Blicharski K., Rząsa A. Surowice odpornościowe dla cieląt – zasady stosowania, zalety, ograniczenia. *Magazyn Weterynaryjny - Zeszyt Edukacyjny: Choroby bydła i małych przeżuwaczy.* 55-60, 2019.
- Stefaniak T., Kopeć W.: The activity of the hen's egg gammaglobulin preparations the food additives against the human alimentary tract pathogens. *Proc. VII Europ Symp. Quality Eggs, Egg Products WPSA.* Poznań, Poland 1997, s. 248-254.
- Stefaniak T., Wieliczko A., Kuczkowski M., Kopeć W., Jamroz D.: Wpływ dodatku immunoglobuliny żółtka jaja kurzego (IgY) do paszy na eliminację zakażenia *Salmonella Enteritidis* oraz wyniki odchowu kurcząt rzeźnych. *Medycyna Wet.* 60, 432-436, 2004.
- Svensson C., Lundborg K., Emanuelson U., Olsson S.O. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Prev. Vet. Med.* 58, 179-197, 2003.
- Zieliński J. Skuteczność swoistej surowicy allogenicznej w zapobieganiu zakażeniu *Haemophilus somnus*. *Med. Weter.* 44, 335-336, 1988.



Leczenie klinicznego *mastitis* bądźmy selektywni!

Stephane Floch DVM

International Medical Manager Udder Health, Vetoquinol SA, 37 Rue de la Victoire, Paryż

Aby promować selektywne leczenie przeciwdrobnoustrojowe klinicznej postaci *mastitis*, a w następstwie zmniejszać użycie ŚP w gospodarstwach, ważne jest, aby schematy były łatwe do zrozumienia i dostosowane do warunków gospodarstwa.

Konsumenci i politycy kojarzą podawanie zwierzętom gospodarskim środków przeciwdrobnoustrojowych (ŚP) z opornością na te środki. Tymczasem potencjalny wpływ ograniczenia stosowania antybiotyków w produkcji zwierzęcej na rozwój oporności na antybiotyki nie został jeszcze jednoznacznie dowiedziony (Ruegg, 2022).

W ostatnim dziesięcioleciu organy regulacyjne podjęły działania zachęcające do redukcji stosowania ŚP zarówno u zwierząt gospodarskich, jak i u zwierząt towarzyszących, zwłaszcza w UE. Pierwsza francuska adaptacja planu Eco-antibio, wdrażana w latach 2012 do 2022, z jasno wyznaczonymi celami i klasyfikacją antybiotyków, przyniosła ogromne zmniejszenie stosowania ŚP: aż o 47% w ciągu 10 lat! Następnie przyjęto jeszcze dalej idące rozporządzenie 2019/6 w sprawie weterynaryjnych produktów leczniczych, przy czym zarządzanie wszelkimi ograniczeniami nadal pozostaje w gestii poszczególnych państw członkowskich UE.

W branży mleczarskiej 70% stosowanych ŚP służy do terapii i profilaktyki chorób wymion: do leczenia klinicznego zapalenia wymienia (dalej

w skrócie KZW), w przypadku którego podaż środków przeciwdrobnoustrojowych można by zmniejszyć ze względu na samoistne ustępowanie niektórych infekcji, oraz do terapii krów zasuszonych (DCT), obejmującej zarówno zwierzęta chore, jak i, w ponad 50%, krowy niezakażone. Wynika to z planów i procedur ustanowionych pół wieku temu i ze zwyczajów przekazywanych sobie przez rolników z pokolenia na pokolenie. Ale także z tego, że słabym punktem w tej dziedzinie pozostają szczepienia!

Zasady selektywnego leczenia przeciwdrobnoustrojowego

W terapii krów zasuszonych (DCT) od ponad dekady promuje się i wdraża leczenie selektywne. Widać, że w krajach, w których organy regulacyjne nie uznały DCT za obowiązkowe, nadal znaczna część krów mlecznych otrzymuje antybiotyki w okresie zasuszania, czy tego potrzebują, czy nie. Praktyka leczenia selektywnego przyjmuje się powoli, gdyż rolnicy nadal postrzegają DCT jako ważny atut w zapobieganiu *mastitis*, a jednocześnie większość z nich ma silne przekona-



nie o ujemnych skutkach selektywnej DCT. Jest więc jeszcze wiele do zrobienia, aby przekonać rolników do przejścia na ten model!

Główną zasadą selektywnego leczenia przeciwdrobnoustrojowego łagodnych postaci KZW jest leczenie tylko przypadków, w których występuje duże prawdopodobieństwo odpowiedzi na antybiotyki (np. gram-dodatnie KZW). Rutynowego leczenia wszystkich przypadków KZW środkami przeciwdrobnoustrojowymi można unikać z uwagi na spadek zapadalności i chorobowości zapaleń wymienia wywołanych przez patogeny zakaźne, lepszą pielęgnację wymion oraz rozwój metod diagnostycznych. W wielu regionach nastąpił zwrot zainteresowania w kierunku bakterii środowiskowych, a rolnicy i lekarze weterynarii uzyskali dostęp do kilku szybkich testów diagnostycznych.

Selektywne leczenie KZW obejmuje tylko przypadki o wysokim prawdopodobieństwie usunięcia zakażenia bakteryjnego za pomocą ŚP a wyłącza zwierzęta, u których ŚP (prawdopodobnie) nie przyniosą korzyści. Kluczowe jest dokładne oznaczenie patogenu w ciągu 24 godzin od wykrycia zachorowania. Drogą do tego jest ocena objawów klinicznych KZM, z wykluczeniem przypadków ciężkich oraz potencjalnego czynnika przyczynowego, co jest istotne zwłaszcza dla patogenów wywołujących infekcje o wysokim odsetku samoistnych wyleczeń, np. KZW z ujemnym posiewem i większość przypadków zakażeń bakteriami Gram-ujemnymi (Suojala i wsp., 2013). Obecnie dostępnych jest kilka komercyjnych szybkich testów diagnostycznych umożliwiających zidentyfikowanie czynnika zakaźnego np. przez barwienie metodą Grama. Systemy te opierają się głównie na hodowli

i identyfikacji patogenów wywołujących *mastitis* z użyciem selektywnych podłoży na płytkach lub w probówkach. Czulość oznaczenia bakterii Gram-dodatnich wynosi od 59 do 98%, a swoistość od 48 do 97% (Malcata i wsp., 2020).

Przewidywane prawdopodobieństwo wyleczenia

Liczba komórek somatycznych (LKS) i wcześniej przebyte KZW mogą być przydatne w identyfikowaniu przypadków KZW o wysokim prawdopodobieństwie wyleczenia (Ruegg, 2018). Wykorzystanie danych o wcześniejszych zachorowaniach na KZW wymaga starannego dokumentowania każdego przypadku choroby (nie tylko zwierząt, którym podawano środki przeciwdrobnoustrojowe). Jeżeli dane te są dostępne, w indywidualnej ocenie prawdopodobieństwa wyleczenia w danym przypadku należy uwzględnić: historyczne poziomy LKS, zachorowania na KZW w przeszłości oraz wyniki szybkich testów diagnostycznych (bakterie Gram-dodatnie lub Gram-ujemne).

Priorytety dotyczące krów i gospodarstw: Priorytety rolników/wartości przypisane poszczególnym krowom również wpływają na decyzje w sprawie leczenia przypadków KZW o przebiegu łagodnym lub umiarkowanie ciężkim. Na wartość krowy mają wpływ takie parametry, jak: liczba wycieleń, faza laktacji, mleczność,

słowniczek skrótów:

KZW – klinicznego zapalenia wymienia

ŚP – środków przeciwdrobnoustrojowych

DCT – terapii krów zasuszonych

tab. 1. Przykłady dostępnych na rynku szybkich orientacyjnych testów wrażliwości.

nazwa testu	czas oczekiwania	informacja zwrotna	źródło
Mastatest	24 h	MIC dla 3. głównych środków przeciwdrobnoustrojowych	Jones i wsp., 2019
MastDecide +Plus	12-14h	1 punkt MIC dla penicyliny	Leimbach i Kromker, 2018
Speed Mam Color	48 h	antybiogram dla 14 antybiotyków	Manner, 2001
PathoProof	4 h	kodowanie genów dla beta-laktamazy za pomocą PCR	



status reprodukcyjny, temperament i potencjał genetyczny potomstwa (Vaarst i wsp., 2002; Schmenger i wsp., 2020). Priorytety gospodarstw to: konieczność wypełnienia kwot mlecznych, utrzymanie niskiego poziomu LKS w zbiorniku, protokoły brakowania, dostępność jałówek remontowych w przypadku brakowania oraz potrzeba maksymalizacji przepływów finansowych (Vaarst et al., 2003). Żaden z tych priorytetów nie wpłynie na prawdopodobieństwo wyleczenia klinicznego, ale może wpłynąć na decyzję o odstąpieniu od leczenia.

Profile lekowrażliwości: Określenie, czy bakterie wywołujące KZW są Gram-dodatnie czy Gram-ujemne, jest kluczowe w selektywnej strategii leczenia. Przykłady dostępnych na rynku szyb-

kich orientacyjnych testów wrażliwości przedstawiono w tabeli 1.

Droga podania: W łagodnych i umiarkowanych postaciach KZW, w niektórych regionach powszechnie stosuje się ŚP ogólnoustrojowo jako jedyną interwencję lub uzupełnienie leczenia do-wymieniowego. Sugeruje się jednak potencjalny związek między opornością na ŚP a systemową drogą ich podaży – z przyjęciem wskaźnika stosowania leku przeciwbakteryjnego w zalecanych dawkach dziennych (Nobrega i wsp., 2018; Stevens i wsp., 2018). Wybór najczęściej zależy od dostępności opcji leczenia przeciwbakteryjnego i terminów zasuszania. Nie wszystkie systemowe środki przeciwdrobnoustrojowe mogą osiągnąć stężenie terapeutyczne (Ehinger i wsp., 2006;

tab. 2. Porównanie wpływu na parametry zdrowotne wymion schematu selektywnego leczenia KZW i schematu standardowego.

badanie/dzień	leczenie selektywne		leczenie wszystkich przypadków		stosunek ryzyka (RR)	RR	waga %
	nowe przypadki	wszystkie	nowe przypadki	wszystkie			
Lago i in. (2016a); 60 d	42	211	60	262		0,87	14,4
Lago i in. (2016b); 60 d	15	117	40	159		0,51	9,6
Bates i in. (2020); 60 d	7	276	9	259		0,73	4,2
Schmenger i in. 2020; 90 d	44	398	35	395		1,25	12,4
Mansion-de Vries i in. (2016); 100 d	83	236	80	230		1,01	17,5
Kock i in. (2018); 100 d	9	43	2	31		3,24	2,1
McDonald (2011); 120 d	13	309	22	328		0,63	7,4
Lago i in. (2011b); 305 d	90	210	77	220		1,22	17,8
McDougall i in. (2018); 305 d	43	211	61	27		0,69	17,7
różnorodność: $I^2=59\%$; $\tau^2=0,06$		2011		2091		0,91	100,0
					0,1 0,5 1 2 10 selektywnie wszystkie		



tab. 3. Zmienna redukcja użycia środków przeciwdrobnoustrojowych.

badanie	brak wzrostu	Gram -	Gram +	leczenie wszystkich	leczenie selektywne	zmniejszenie
Lago i in. (2011a;b)	0,33	0,25	0,34	1,00	0,44	0,56
MacDonald (2011)	0,28	0,1	0,46	1,00	0,60	0,40
Lago i in. (2016a)	0,54	0,08	0,34	1,00	0,16	0,54
Lago i in. (2016b)	0,37	0,11	0,47	1,00	0,28	0,72
Vasquez i in. (2017)	0,3	0,34	0,47	1,00	0,32	0,68
McDougall i in. (2018)	0,09	0,09	0,77	0,98	0,8	0,18
Bates i in. (2020)	0,09	0,05	0,86	1,00	0,76	0,24
Griffoen i in. (2021)	0,19	0,22	0,34	0,86	0,68	0,21
Borchardt i in. (2022)	0,17	0,13	0,7	1,00	0,70	0,30

Pyörälä, 2009). W związku z tym należy ocenić ich właściwości farmakologiczne.

Leczenie wspomagające: NLPZ – oprócz leczenia bólu, w łagodnych i umiarkowanych postaciach KZW – leki te mogą przynieść także inne korzyści: obniżenie temperatury rektalnej, niższe tętno, lepszą motorykę żwacza i poprawę objawów klinicznych (Anderson i in., 1986; Anderson i Hunt, 1989; Lohuis i in., 1991; Wagner i Apley, 2004; Vangroenweghe i in., 2005; Banting i in., 2008; Zimov i in., 2011; Yeiser i in., 2012; Chapinal i in., 2013). Czas wycofania mleka chorej krowy z użytkowania i dostępność NLPZ wpływają nie tylko na ich stosowanie, ale także na osiągnięcie celów produkcyjnych gospodarstwa, dobrostan krów i koszty. W schematach leczenia KZW uwzględnia się też niekiedy inne rodzaje leczenia wspomagającego, w tym: płyny nawadniające, częste dojenie, oksycytenę, wapń, hipertoniczną sól fizjologiczną i kortykosteroidy (Roberson, 2012; Oliveira i Ruegg, 2014; Persson Waller i in., 2016). Brakuje jednak wystarczających badań, aby ocenić ich skuteczność (Leslie i Petersson-Wolfe, 2012; Francoz i in., 2017).

Oceniając efekty wdrożenia schematu selektywnego leczenia KZW dla krów i gospodarstw należy uwzględnić głównie: zdrowie wymion, stosowanie środków przeciwdrobnoustrojowych, konsekwencje ekonomiczne.

W niedawno opublikowanym przeglądzie systematycznym z metaanalizą, którym objęto

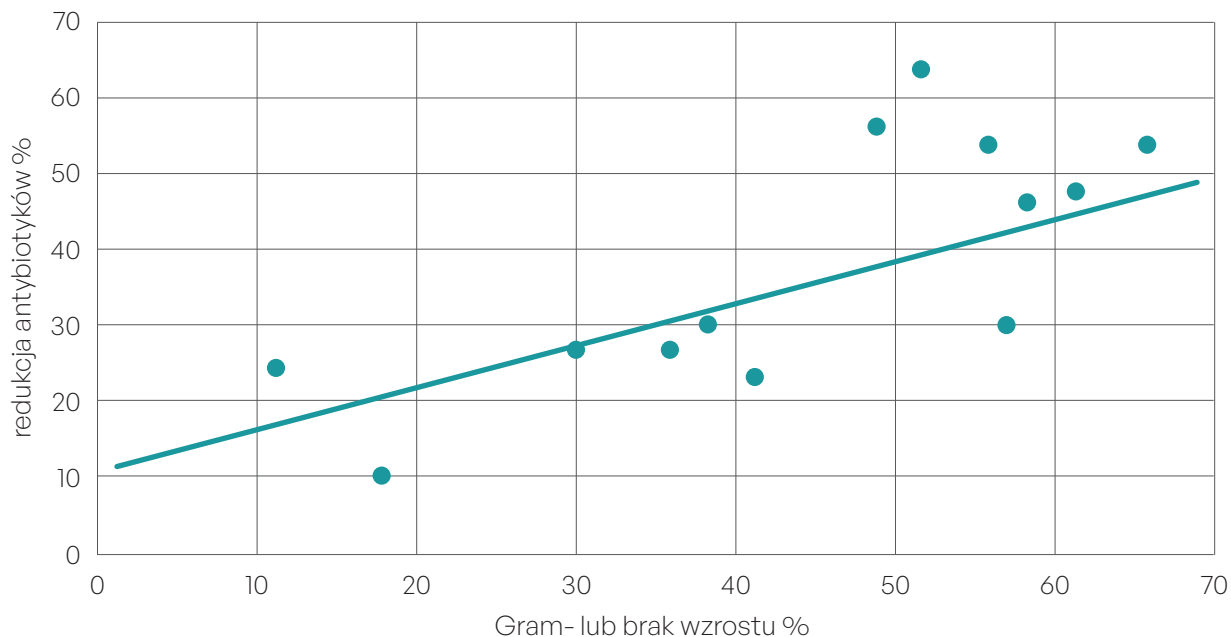
13 badań porównujących wpływ na parametry zdrowotne wymion odpowiednio: schematu selektywnego leczenia KZW i schematu standardowego (De Jong i in., 2023), stwierdzono, że w uzyskiwaniu wyleczenia infekcji bakteryjnej schemat selektywny nie okazał się gorszy od schematu standardowego (tab. 2.).

Ponadto w przeglądzie nie znaleziono dowodów na istnienie różnic między przypadkami leczonymi według schematu standardowego i selektywnego pod względem ryzyka kolejnego zapalenia gruczołu mlekowego, nawrotu KZW w późniejszym okresie laktacji, powrotu LKS do wartości wyjściowych, wpływu na średnią mleczność i ryzyka brakowania.

Stosowanie środków przeciwdrobnoustrojowych: w tym samym przeglądzie odnotowano zmienną redukcję użycia ŚP (por. tabela 3). Jedyną zmienną objaśniającą to zjawisko był odsetek przypadków zidentyfikowanych jako wywołane przez bakterie Gram-ujemne lub jako KZW z posiewem jałowym.

Wyniki modelu liniowego przedstawiono na rysunku 1 (str. 32): dopasowany model można opisać jako $y = 0,06 + 0,91x$, co oznacza, że przy wzroście o 10 punktów procentowych odsetka przypadków rozpoznanych jako wywołane przez bakterie Gram-ujemne lub jako KZW z posiewem jałowym, odsetek przypadków, w których zmniejszono użycie ŚP, wzrastał o 9,1 punktu procentowego (95% CI: 0,4 – 14,1%).

ryc. 1. Model liniowy.



Konsekwencje ekonomiczne

Bezpośrednie koszty związane ze schematami leczenia selektywnego, to koszty analizy próbek mleka (praca i koszty płytek). Jako potencjalne korzyści z selektywnego leczenia KZW wskazywano: zmniejszone koszty leczenia i skrócenie czasu wyłączenia mleka chorej krowy z użycia. Koszty pośrednie obejmowały straty produkcyjne spowodowane KZW oraz potencjalne koszty brakowania i remontu. Sелеktywny schemat leczenia oparty na wynikach posiewów wykonywanych na miejscu w gospodarstwie pozostawał korzystny, o ile za < 50% przypadków KZW odpowiadały bakterie Gram-dodatnie (rys. 2, Down i in., 2017). Najważniejszymi czynnikami wpływającymi na koszty były różnice w liczbie dni, podczas których mleko pozyskane od zakażonej krowy nie trafiało do zbiornika, koszty leczenia przeciwbakteryjnego (Down i in., 2017) oraz zakładana cena mleka (Pinzón-Sánchez i in., 2011).

Perspektywy

Przyjęcie schematów selektywnego KZW: odsetek gospodarstw stosujących tę strategię jest różny w różnych krajach. Nadal popularny jest schemat standardowy, zwłaszcza w Ameryce Północnej i Południowej, natomiast w UE

intensywnie zachęca się do planowania terapii na podstawie wyników oceny etiologii bakteryjnej zakażenia i lekowrażliwości patogenów. Bez oparcia w przepisach prawnych dobrowolna akceptacja schematów selektywnego leczenia KZW, a co za tym idzie wykonywanie szybkich testów diagnostycznych na miejscu w gospodarstwie, wymaga od producentów i ich pracowników silnej motywacji i zaangażowania. Do prawidłowego wykonywania i interpretowania testów potrzeba przeszkolenia i wprawy, zaś do podtrzymania tej wiedzy może być konieczna odpowiednio duża liczba przypadków KZW miesięcznie.

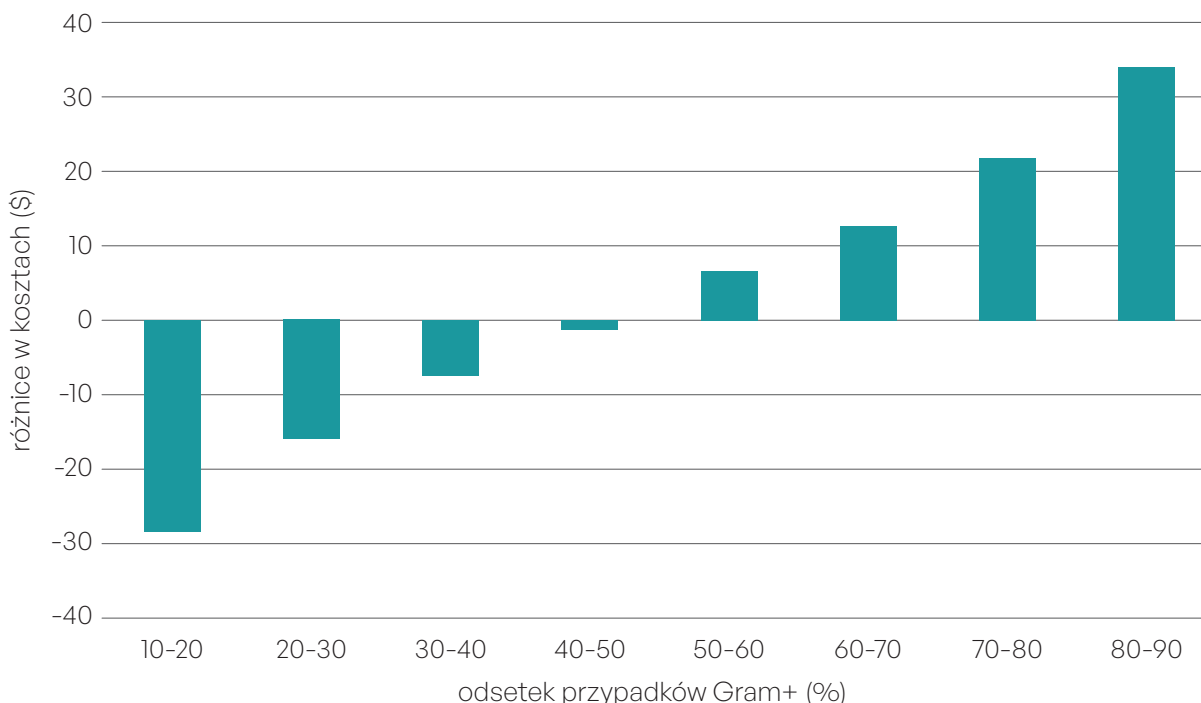
Luki w wiedzy i technologii

Zbadanie możliwości zastąpienia kuracji przeciwbakteryjnych przez NLPZ w łagodnych i umiarkowanych postaciach KZW mogłoby udoskonalić proponowany schemat selektywnego leczenia *mastitis*, zwiększyć stopień redukcji użycia ŚP, a jednocześnie pozytywnie wpłynąć na dobrostan zwierząt.

Dokładność diagnostyczna kilku szybkich testów diagnostycznych do wykonywania na miejscu w gospodarstwie nie jest optymalna. Jeśli porównać wyniki szybkich testów z wynikami konwencjonalnych analiz laboratoryjnych okazu-



rys. 2. Wpływ selektywnego schematu leczenia na koszty przy ponad 50% udziale bakterii Gram+ w przypadkach klinicznych postaci *mastitis*.



je się, że od 14% do 22% krów z KZW powinno być otrzymać leczenie (odpowiednio Lago i in., 2011a oraz McDougall i in. 2018).

Metoda łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) może być stosowana jako szybki test diagnostyczny alternatywnie do metod opartych na hodowli. Testy PCR mogą szybciej generować wyniki i wykrywać mniejsze ilości bakterii.

Istnieje wprawdzie konsensus w kwestii przydatności LKS i danych o wcześniejszych zachorowaniach na KZW jako czynników predykcyjnych w identyfikowaniu przypadków *mastitis* o niskim prawdopodobieństwie wyleczenia klinicznego, niemniej brakuje dostatecznych danych na temat wartości progowych, a kryteria opisane w różnych schematach selektywnego leczenia KZW są niewystarczająco uzasadnione. Jako że nie przeprowadzono badań oceniających schematy selektywnego i standardowego leczenia KZW w gospodarstwach ze zautomatyzowanymi systemami doju, podjęcie jakiegokolwiek decyzji jest niemożliwe.

Aby promować selektywne leczenie przeciwdrobnoustrojowe KZW, a w następstwie zmniejszać użycie ŚP w gospodarstwach, ważne jest, aby schematy były łatwe do zrozumienia

i dostosowane do warunków danego gospodarstwa. Będzie to również wymagało zrozumienia motywacji i możliwości grupy docelowej, a także wpływów społecznych, jakim ona podlega (Lam i in., 2017).

Warto zapamiętać:

- Leczenie przeciwbakteryjne nie jest korzystne we wszystkich przypadkach KZW → identyfikacja krów, u których przyniesie ono dobry skutek, jest kluczem do rozsądnego stosowania ŚP w mleczarstwie.
- Charakterystyka i historia stada oraz poszczególnych krów + szybka identyfikacja patogenu chorobotwórczego → decyzja o leczeniu.
- W literaturze nie opisano negatywnych konsekwencji dla zdrowia wymion (skojarzenie z NLPZ poprawia wyniki leczenia).
- Brak niekorzystnych skutków ekonomicznych.
- Popularyzacja selektywnego leczenia KZW zależy od ustawodawstwa, systemów zarządzania i wdrażania programów kontroli.
- Poziom redukcji stosowania ŚP zależy od rodzaju patogenów wywołujących KZW.

Bibliografia udostępniana na prośbę Czytelnika



Postępowanie diagnostyczne w przypadku upadków cieląt

Michał Bednarski

Katedra Epizootiologii i Administracji Weterynaryjnej z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu

Przyczyna śmierci może, ale nie musi, być związana z chorobą powodującą straty na fermie. To stwierdzenie odnosi się także do zmian sekcyjnych.

W diagnostyce przypadków upadków cieląt należy uwzględnić historię choroby, wiek zwierząt oraz objawy kliniczne. Bardzo pomocne w postawieniu diagnozy jest badanie sekcyjne, ponieważ pozwala na kompleksową ocenę stanu narządów wewnętrznych, określenie lokalizacji oraz charakteru zmian patologicznych. Ponadto sekcja umożliwia pobranie wycinków narządów wewnętrznych do dalszych badań. Możliwe jest ograniczenie badania głównie do pobrania próbek do dalszych badań. W takiej sytuacji największy nacisk kładzie się na czystość pobieranego materiału a w drugiej kolejności na ocenę zmian patologicznych w narządach. Do jej wykonania zwykle używa się kilku zestawów sterylnych narzędzi sekcyjnych: do otwierania powłok brzusznych oraz osobne zestawy do pobierania wycinków narządów. W trakcie wykonywania tego badania ważna jest kolejność gromadzenia materiału. Najpierw pobiera się wycinki wątroby, następnie śledziony, płuc a na końcu wycinki przewodu pokarmowego, ponieważ tu występuje największa liczba drobnoustrojów. Szczególnie ważne jest oddzielne pakowanie każdej próbki do sterylnych pojemników lub worków a następnie szczegółowe ich opisanie. W przypadku bydła zwykle takie postępowanie jest zawężane do chorób układu oddechowego. W warunkach terenowych wykonuje się więc małe otwarcie jamy klatki piersiowej i pobiera fragment płuc. Ważne jest zebranie reprezentatywnej liczby prób i właściwe pobieranie materiału. Aby zapewnić wiarygodność badań, materiał powinien

pochodzić od jak największej liczby zwierząt (kilku cieląt) nieleczonych, jeśli to możliwe, w początkowym stadium choroby.

Tok badania

Wywiad: w trakcie którego oprócz informacji ogólnych na temat stada (liczba zwierząt, sposób organizacji, żywienie, czy i kiedy dokonano zakupu zwierząt, programy szczepień), należy ustalić dane liczbowe dotyczące zachorowań w stadzie w ostatnim okresie oraz – o ile to możliwe – w latach ubiegłych, a także czy i jakie objawy kliniczne występują.

Badanie kliniczne: pozwala określić charakter choroby, zwłaszcza ostry czy przewlekły. W przypadkach nadostrych i ostrych (nagłe upadki) badanie kliniczne nie wnosi żadnych informacji, ale wiadomość o nagłych upadkach jest bardzo cenna z punktu widzenia przyszłej diagnostyki, ponieważ zdecydowanie ogranicza liczbę potencjalnych jednostek chorobowych.

Badanie sekcyjne: często przystępując do niego już wiemy z jaką chorobą boryka się stado lub jak jednostka chorobowa spowodowała śmierć zwierzęcia. W takim przypadku sekcja ma na celu ustalenie dokładnej etiologii. Na przykład, w chorobach układu oddechowego ważna jest etiologia a nie samo zapalenie płuc. Warto jednak mieć na uwadze fakt, że tylko połączenie zmian patologicznych z czynnikiem powodującym takie zmiany pozwala postawić pewne rozpoznanie. Przeprowadzając sekcję zwierzęcia padłego na zespół oddechowy, często stwier-



dza się zmiany o charakterze przewlekłym lub bakteryjnym. Powszechnie wiadomo, że choroby układu oddechowego była są wieloczynnikowe, a pierwszym ich źródłem są wirusy (celowo nie jest tu poruszany temat czynników niezakaźnych). Uzyskanie informacji: co było pierwotnym czynnikiem odoskrzelowego zapalenia płuc? jest kluczowe, jednak badanie sekcyjne przypadków przewlekłych, nawet przy wykorzystaniu technik biologii molekularnej, jest często zawodne.

Warto pamiętać, że są grupy jednostek chorobowych, które występują częściej. Należą do nich zapalenia układu oddechowego, biegunki cieląt czy posocznice, ale także zakażenia bakteriami beztlenowymi. W każdym z tych przypadków badanie sekcyjne jest bardzo użyteczne, ale pełne rozpoznanie wymaga wykonania panelu badań laboratoryjnych: mikrobiologii, a w przypadku układu oddechowego czy zakażeń przewodu pokarmowego także zastosowania technik biologii molekularnej.

Szczególnie trudne w diagnostyce są choroby metaboliczne. Tutaj badanie sekcyjne jest o tyle przydatne, że pozwala na wykluczenie wielu jednostek chorobowych. Jest jednak zawodne zwłaszcza w chorobach niedoborowych (np. hipokalcemia). Drugą grupą trudną w diagnostyce są choroby neurologiczne. W tym miejscu warto zauważyć, że u podstaw większości z nich stoją zaburzenia metaboliczne a nie choroby zakaźne. Zmiany w obrębie centralnego układu nerwowego wymagają badania histopatologicznego i rzadko wiążą się z występowaniem zmian widocznych makroskopowo (ropnie, wady rozwojowe, ropne zapalenia mózgu i opon mózgowych, zatory i zawąty). Niestety, zmiany histologiczne w większości chorób metabolicznych nie występują lub są niespecyficzne.

Pobranie prób do badań laboratoryjnych, ukierunkowanie badań

Od padłego zwierzęcia do **badania mikrobiologicznych** należy pobrać wycinek wątroby, śledziony, płuc i jelita oraz każdy narząd i tkankę posiadającą zmiany patologiczne. Można także pobierać wymazy z narządów, ale tylko na wiązówki z podłożem transportowym.


Badania histopatologiczne wymagają pobrania fragmentów wątroby, śledziony, płuc, nerek, nadnercza oraz mózgu w całości. Warto pamiętać,

że do tego badania nie jest konieczny duży fragment (kostka o boku 1 cm jest wystarczająca), ale nie może być zmiążdżony. Do wad tego badania należy niewątpliwie czas oczekiwania na wyniki.

Badania serologiczne: istnieje możliwość wykonania takiego badania z surowicy pozyskanej ze skrzepów obecnych w dużych naczyniach lub sercu. Przy interpretacji wyników należy jednak pamiętać, że powstawanie przeciwciał wymaga czasu i zwykle do stwierdzenia serokonwersji nie dysponujemy próbką pobraną wcześniej.

Badania technikami biologii molekularnej: materiałem w przypadku układu oddechowego są: wymazy (wymazówka bez podłoża), popłuczyny z drzewa oskrzelowego lub fragmenty płuc (z granicy zmian). Ilość materiału potrzebna do izolacji materiału genetycznego jest bardzo mała (maksymalnie 0,1 g lub 0,1 ml).

Interpretacja wyników

Przeprowadzenie sekcji wymaga odpowiedniego sprzętu, miejsca i wiedzy. Sekcja pozwala na określenie charakteru i rozległości zmian patologicznych, ale stwierdzonych zmian nie należy utożsamiać z przyczyną śmierci oraz choroby. W trakcie samej sekcji ujawniane są zmiany związane ze śmiercią zwierzęcia, które korespondują (lub nie) z zachorowaniami na fermie, oraz zmiany pośmiertne. Lekarz wykonujący badania powinien w pierwszej kolejności ocenić zmiany pośmiertne tak, by nie brać ich pod uwagę. Dużym ułatwieniem jest znajomość czasu śmierci zwierzęcia. Natomiast interpretując wyniki mikrobiologiczne należy uwzględnić zanieczyszczenie/rozkład materiału. Wyniki badań dodatkowych muszą być zgodne z obserwowanymi zmianami klinicznymi i sekcyjnymi. Dodatkowo powinny być zgodne z epidemiologią danej jednostki chorobowej. Najłatwiej posłużyć się przykładem: jeżeli wynik badania mikrobiologicznego wskazuje na *E. coli* jako czynnik sprawczy, należy poważnie rozważyć, czy rzeczywiście tak jest. *E. coli* może powodować zapalenia układu oddechowego, ale nie ma potencjału do rozprzestrzeniania się drogą aerogenną. Zatem albo jest to zanieczyszczenie (pośmiertne lub zachłyst), albo przypadek incydentalny (bez znaczenia dla stada), albo posocznica, co powinny odzwierciedlić wyniki posiewów z innych narządów. 



Bezzałogowe statki powietrzne wykorzystywane w ograniczaniu rozprzestrzeniania się czynników zakaźnych chorób zwierząt

Paweł Szymański¹, Krzysztof Niemczuk², dr inż. Paweł Szczepaniak³

¹ Lasy Państwowe, Nadleśnictwo Jabłonna, Polskie Towarzystwo Leśne, Oddział w Warszawie, Instytut Debat o Środowisku pawel.szymanski@warszawa.lasy.gov.pl, szymanski.gps@gmail.com;

² Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, kniem@piwet.pulawy.pl;

³ Instytut Techniczny Wojsk Lotniczych, Zakład Kompozytowych Konstrukcji Lotniczych

Niniejsze opracowanie przedstawia koncepcję zwalczania chorób zakaźnych z wykorzystaniem dronów, np. poprzez szybkie i precyzyjne zdobywanie informacji o lokalizacji dzików jako potencjalnych nosicieli wirusa ASF.

Początki bezzałogowych statków powietrznych (BSP), zwanych dziś powszechnie dronami, sięgają I wojny światowej, gdy firma Curtis Aeroplane Company zbudowała pierwszego bezzałogowca przeznaczonego do niszczenia niemieckich U-Bootów. Częściowo uważa się za bezzałogowe drony niemieckie rakiety V-1 z 1943 r., które posiadały silnik pulsacyjny. USA, jako jeden z pierwszych krajów w historii, zastosował BSP do zadań zwiadowczych. Urządzenie nazwane Ryan 147 (Firebee) zaprogramowano do misji lotniczej podczas wojny w Wietnamie. W podobnym czasie swoje prace rozpoczęła Rosja, tworząc Tupolewa Tu-121 (i inne wersje: Tu-123, 139, 141 itp). W latach 70. XX w., bardzo zaawansowany w technologii lotów bezzałogowych był Izrael, który wyprodukował maszynę o nazwie „Pioneer”. Firma została zakupiona przez rząd USA, rozwijając izraelski projekt, który następnie był wykorzystywany podczas wojny w Zatoce Perskiej w 1990 roku (Przywara 2012).

Bardzo dynamicznie rozwija się także rynek cywilny, kiedy to od 2005 roku drony stały się bardziej osiągalne ekonomicznie. Potrzeby wykorzystania BSP do przenoszenia sensorów optycznych i uzyskiwania określonych, wymaganych zobrazowań, zaowocowały licznymi badaniami i testami dotyczącymi systemów rejestrujących oraz konstrukcji (Merino i inni 2006,

Grenzdörffer i inni 2008, Eisenbeiss 2008. La-liberte i inni 2010, Aber i inni 2010). Najmniejsze drony naśladują kształtem owady (1,5–4 cm), są wyposażone w mikrofon i kamerę służącą do prowadzenia akcji i działań wywiadowczych (Stangret 2013 B). Studenci Politechniki Warszawskiej opracowali BSP przeznaczony do precyzyjnych zrzutów ładunków. W leśnictwie zdjęcia z BSP wykorzystywane są np. do wyznaczania granic i określania cech taksacyjnych drzewostanów, do oceny stanu zdrowotnego (Będkowski 2010) lub do szybkiej inwentaryzacji leśnej mapy numerycznej (Brach i inni 2017). Innym zastosowaniem jest monitorowanie stanu przeciwpożarowego lasu, szybkie lokalizowanie powstałego pożaru (Szymański 2014), czuwanie nad nienaruszalnością mienia (Krzewska 2013). Artykuł ten przedstawia koncepcję zwalczania chorób zakaźnych z wykorzystaniem BSP, np. poprzez szybkie i precyzyjne zdobywanie informacji o lokalizacji dzików jako potencjalnych nosicieli wirusa ASF, wspomaganie działań prewencyjnych dzięki precyzyjnym zrzutom szczepionek, np. dla lisów przeciwko wścieklicznie.

Bezzałogowe statki powietrzne
– technika

Możliwości technologiczne dzisiejszych BSP/
RPAS – Remotely Piloted Aircraft Systems/ UAV



– unmanned aerial vehicle, pozwalają coraz skuteczniej rywalizować z konwencjonalną techniką teledetekcyjną, jak np. zdjęcia lotnicze z załogowych samolotów. Ich możliwości pozwalają na badania zjawisk, wcześniej niedostępnych (Cummings i inni 2017). Rozwój czujników i przyrządów stosowanych w tych urządzeniach rośnie wykładniczo (Pajares 2015). Trwają prace nad autonomicznym lądowaniem na innych platformach bezzałogowych (Polvara i inni 2018). Podobne rozwiązania stosowane są przez rakiety wielokrotnego użytku wyprodukowane przez firmę SpaceX, takie rozwiązanie zmierza do całkowitej autonomiczności BSP do celów monitoringowych.

Największy potencjał mają małe drony, wykorzystywane do wielu specyficznych zadań, głównie obserwacji i monitoringu, jak np. na obszarach tropikalnych (Paneque-Gálvez i inni 2014). Według nomenklatury wojskowej (USA) istnieje ogólny podział RPAS/UAV w sferze cywilnej na kilka typów w oparciu o rozmiar, wytrzymałość i możliwości (Watts i inni 2012):

- MAV lub NAV mieszczą się w plecaku, wysokość lotu do 330 m, czas 5–30 minut;
- VTOL nie wymagają pasów startowych – startują i lądują jak helikopter;
- LASE ważą 2–5 kg, rozpiętość skrzydeł do 3 m, czas lotu 1–2 h;
- LASE Close wymagają pasa startowego, maksymalna wysokość lotu 1500 m;
- LALA mogą transportować kilkukilogramowe ładunki;
- MALE osiąga pułap do 9000 m, lata przez wiele godzin, setki kilometrów od bazy;
- HALE mogą być większe od małych samolotów załogowych, pułap do 20000 m, tysiące kilometrów od bazy, czas lotu powyżej 30 godzin (Paull i inni 2014).

Generalnie istnieją dwa najpopularniejsze typy bezzałogowców: samoloty i wielowirnikowce. Do długich misji, mających na celu zobrazowanie dużych powierzchni, najlepszy jest samolot konstrukcyjnie wyglądający jak tzw. „skrzydło”. Podstawą zaletą samolotu UAV jest mniejszy niż w przypadku wiroplątów pobór mocy, aby utrzymać go w powietrzu wystarczy nadać mu prędkość większą od przeciągnięcia, resztę wykona siła nośna. Dzięki temu samolot ma znacznie większy zasięg lotu i prędkość w porównaniu do

wielowirnikowca (Dougherty 2015). Przyszłość w teledetekcji może opierać się o wielkie samoloty BSP, o rozpiętości skrzydeł wynoszących np. 75,3 m, wyprodukowane przez NASA. Jest to koncepcja zakładająca używanie tzw. „satelit atmosferycznych”. Taki szeroki płatowiec wyposażony jest w panele słoneczne ładujące akumulatory, wysokość lotu to ponad 30 km, czas przebywania w powietrzu od kilku dni do kilku miesięcy (Dougherty 2015).

Teledetekcja i fotogrametria z niskiego pułapu

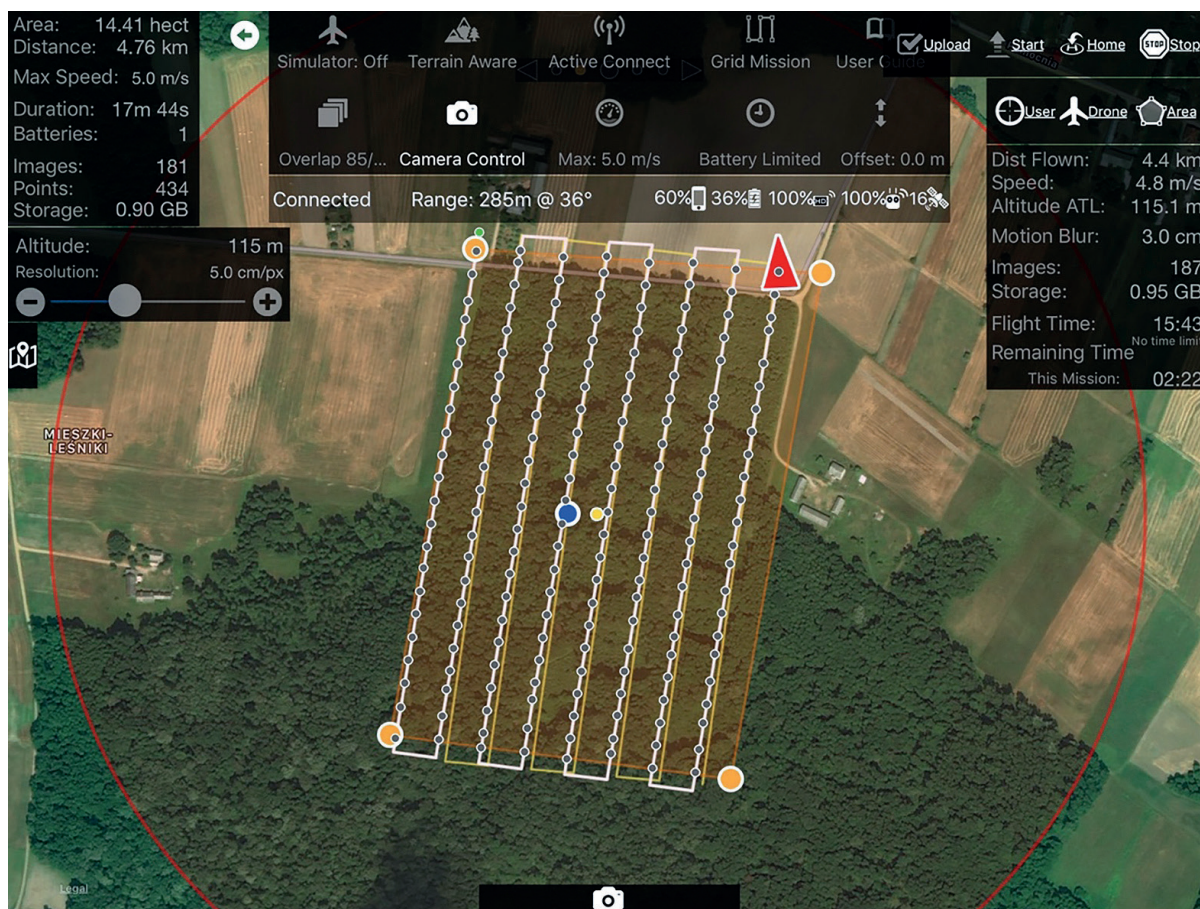
Struktura środowiska jest bardzo zmienna i dynamiczna, dlatego podejmowane są działania mające pomóc w ich ochronie i ewentualnym odtworzeniu (Aronson, Alexander 2013). Monitorowanie najlepiej wykonywać poprzez obserwację zdjęciami satelitarnymi lub lotniczymi, zwłaszcza w ujęciu zmniejszania się powierzchni leśnych, jak i ich odbudowy oraz przyrostu (Chazdon 2014). Eksperci wykorzystujący dane potrzebują dostępu do analiz przestrzennych najlepszej jakości, zarówno satelitarnych, jak i pozyskanych technologiami mobilnymi, dostępnymi w internecie (Chazdon i inni 2016). Wykorzystanie kamer niemetrycznych wraz z tanimi platformami bezzałogowymi, to sposób szybkiego pozyskiwania informacji z wysoką rozdzielczością na niewielkich terenach pokrytych roślinnością (Cruzan i in., 2016). Zaletą BSP są niewielkie koszty gotowych technologii w połączeniu z wysoką jakością danych (Tang, Shao 2015), duże możliwości wykorzystania, czy uniezależnienie się od wpływu chmur poprzez lot na niskim pułapie (Torres-Sánchez i in. 2013). Niestety, istnieją również problemy, jak ograniczona żywotność baterii, podatność na trudne warunki pogodowe (Matese inni 2015), niewielki teren, który można sfotografować z pomocą BSP, łatwa utrata kontaktu wzrokowego z RAPS (RemotelyPiloted Aircraft System), co za tym idzie osłabienie transmisji danych (Tomaščík i inni 2017). A gdy zostaną pozyskane dane w dobrej rozdzielczości, pojawia się kolejny problem związany z gromadzeniem filmów i zdjęć teledetekcyjnych, które generują bardzo dużą objętość danych (Torresan i inni 2017).

Rozwiązaniem jest najnowsze oprogramowanie fotogrametryczne umożliwiające szybkie

przetwarzanie danych z nalotów fotogrametrycznych wykonywanych za pomocą dronów, nawet tych niskobudżetowych. Innymi słowy, jest to narzędzie wykorzystywane do mapowania przestrzeni za pomocą wiązki lasera, dającej trójwymiarowy obraz terenu. Dzięki wiązce laserowej, wykorzystującej chmurę punktów, jesteśmy w stanie z bardzo dużą dokładnością, bliską perfekcji, określić ukształtowanie mapowanego terenu. Rozwiązania stworzone przez programistów dają duże możliwości pracy, np. dane można opracowywać na komputerach stacjonarnych, jak również przez wysłanie danych przeglądarką internetową na serwery wykorzystujące pracę w chmurze danych. Takie rozwiązanie umożliwia generowanie ortomozajki, jak również modelu pokrycia terenu z chmury punktów. Za precyzję uzyskanych produktów

odpowiada między innymi odbiornik nawigacyjny znajdujący się wewnątrz BSP.

Przed wykonaniem nalotu warto dla bezpieczeństwa i uzyskania prawidłowych materiałów, zaplanować całą misję fotogrametryczną. Projekty wymagają zdefiniowania podstawowych parametrów nalotu, takich jak: pokrycie podłużne i poprzeczne, miejsce startu i lądowania, wysokość lotu (Kędziński i inni 2014). Rycina 1 przedstawia wykonany nalot fotogrametryczny aplikacją Map Pilot (wraz ze wszystkimi parametrami lotu), wykorzystujący wbudowany GNSS wewnątrz taniego BSP marki DJI Phantom 4. Zastosowanie gotowych oprogramowań do tworzenia ortomozajki oraz numerycznych modeli pokrycia terenu częściowo zmniejsza liczbę błędów dzięki działaniu zaawansowanych algorytmów (Wallace i inni 2016). Podobny schemat



ryc. 1. Zrzut ekranu projektu nalotu fotogrametrycznego wykonanego z wykorzystaniem oprogramowania Map Pilot (wraz z widoczną trasą i parametrami zrealizowanego lotu). Pomiary położenia wykonuje wbudowany GNSS, platforma UAV–DJI Phantom 4. Nadleśnictwo Pułtusk RDLP W-wa (wyk. P. Szymański, www.dronesmadeeasy.com).



ryc. 2. Bezzałogowy statek powietrzny przeznaczony do oprysków – DJI AGRAS T10 (<https://prodron.pl/katalog/agras/>).

lotu można zastosować podczas wykonywania oprysków (ryc. 2), zwalczania chorób zakaźnych, np. ASF, czy zrzutu szczepionek, np. dla lisów przeciwko wściekliźnie ryc. 3).

W przypadku oprogramowania desktopowego autor przytacza publikację naukową, przedstawiającą zalety i wady działania różnych programów do tworzenia ortofotomap, w których występowały różne defekty, jak np. przesunięcia dachów, dodawanie lub zamazywanie różnych drzew i obiektów, zniekształcenia na łączeniach zdjęć itp. (Brach M. Cheung-Wai Chan J., Szymański P. 2019. Accuracy assessment of different photogrammetric software for processing data from low-cost UAV platforms in forest conditions. *iForestBiogeosciences and Forestry* vol. 12: 435-441). Autor przedstawia eksperyment, który zastosował w publikacji. Wykonane zdjęcie lotnicze jest w rzucie środkowym, czyli odchylenia wysokich obiektów proporcjonalnie zwiększają się im dalej obiekt znajduje się od środka zdjęcia (np. na skraju zdjęcia widać ścia-

ny budynków). Zobrazowanie stanowi jedno ze 114 zdjęć wykonanych podczas nalotu fotogrametrycznego, przeznaczonych do wykonania ortofotomapy. Przykłady różnic: znikający samochód, różna liczba drzew, środek dachu znajduje się w różnych miejscach, zmieniający się dach i położenia kominów, poszarpany brzeg dachu, zanik drzew (wizualnie zostają rozmyte i stanowią część trawnika), różna powierzchnia korony drzew, przesunięcia linii energetycznych, jedno drzewo przedstawione jest jako dwa oddzielne. Można przytoczyć znacznie więcej przykładów i zmian, opisując je szczegółowiej, jednakże jedynie starano się przedstawić ideę problemu zdjęć zamieszczanych np. na Geoportalu, Google Maps i innych serwisach mapowych. Bardzo duża zawartość tego typu błędów czy tzw. artefaktów teledetekcyjnych mogą wpłynąć na końcową opinię.

Idealne narzędzie do monitorowania roślinności

Częste zastosowanie BSP i możliwość jego użycia w różnych warunkach, a także niski koszt wskazują, że ta technologia jest potencjalnie idealnym narzędziem do monitorowania roślinności (Lejot i inni 2007, Dunford i inni 2009, Carbonneau i in. 2012), czy analizowania liczby kwiatów na drzewie pod kątem dostępności nektaru dla pszczoł (Carl i inni 2017), ale również kwiatów na sośnie zwyczajnej (Szymański 2014). Po kwitnieniu drzew, kolejnym etapem rozwoju jest wytworzenie np. szyszek na sośnie zwyczajnej, świerku pospolitym, które można policzyć wy-



ryc. 3. Lis - (łac. *Vulpesvulpes*) oraz szczepionka zrzucana z samolotów (Powiatowa Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Krakowie <https://www.gov.pl/web/pssse-krakow/szczepienia-lisow-wolno-zyjacych-przeciwko-wsciekliźnie>).

konując zdjęcie z BSP i stosując odpowiednie algorytmy, które przedstawią wynik w postaci liczby szyszek, wagi oraz potencjalnej ilości nasion na drzewie (Szymański 2018). Warto też zaznaczyć, że loty fotogrametryczne BSP mogą odbyć się w celu wyznaczenia drzew metodami geometrycznymi do trzebieży w drzewostanach (Guderski 2019). Innymi obiektami monitorowanymi są tereny trudno dostępne, jak np. torfowiska (Lovitt i inni 2017), tereny naturalne, rzeki, pływy (Manfreda i inni 2018) oraz tereny rolne, np. pszenica (Du, Nouguchi 2017), czy wzrost kapusty (Kim i inni 2018). Z pomocą BSP można również skutecznie i szybko lokalizować miejsce występowania pożaru. Lokalizacja pożaru z BSP jest uzyskiwana dzięki przecięciu azymutów obserwacji bezzałogowca, na tej samej zasadzie jaką stosuje się podczas lokalizowania z 2. wież PPOŻ (Szymański 2014). W podobny sposób można lokalizować zwierzęta wykorzystując kamery termalne. Dzięki odpowiednim ustawieniom BSP można z powodzeniem lokalizować dziki znajdujące się na polu uprawnym i w lesie (ryc. 4). Instytut Techniczny Wojsk Lotniczych zaprojektował BSP (ryc.5) i wyposażenie do samochodu przystosowanego do przewozu i obsługi BSP.

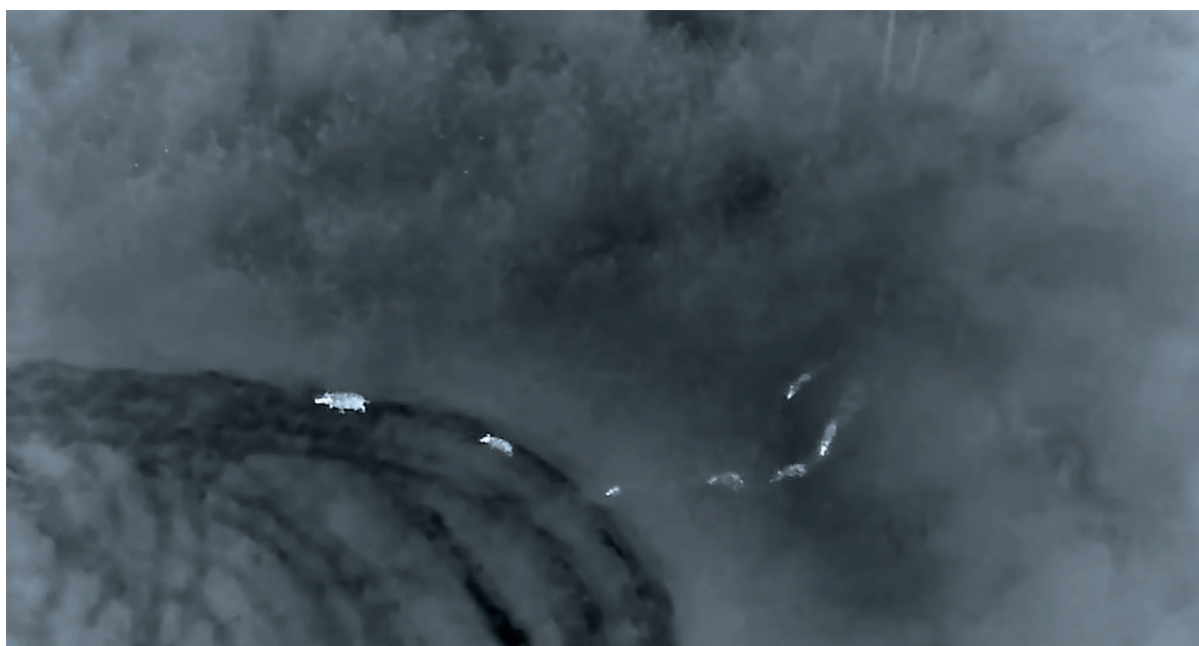
Projekty ITWL zostały wykonane na zlecenie Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi, zgodnie

z umową NCBiR (DOBBIO9/30/01/2018 – nazwa projektu: „Zastosowanie innowacyjnych i efektywnych metod i technologii umożliwiających wykrycie watah dzików, identyfikacji osobników z objawami klinicznymi ASF w naturalnym terenie ich występowania”.

Znacząco rozwijają się nowe możliwości zastosowań BSP w leśnictwie. Nieustanny postęp technologiczny sprzyja zmianom technik inwentaryzacji lasu kreując nową definicję leśnictwa precyzyjnego (Lisein i inni 2015). W światowych badaniach BSP jest już bardzo często wykorzystywany np. do: monitorowania fenologii użytków zielonych (Van Iersel i inni 2016), wiosennej



ryc. 5. Bezzałogowy Statek Powietrzny autorstwa Instytutu Technicznego Wojsk Lotniczych.



ryc. 4. Dzik (*Sus scrofa*) – zdjęcie wykonane BSP autorstwa Instytutu Technicznego Wojsk Lotniczych.



fenologii drzew (Berra i inni 2016), w tym dębów (Szymański i inni 2014) lub pomiaru kąta liścia (McNeil i inni 2016). Innym przykładem jest użycie wielowirnikowców BSP do monitorowania zawartości azotu (Caturegli i inni 2016). Wykorzystanie prostszych kamer do tego typu zadań również ma powodzenie, np. z zastosowaniem zobrażeń CIR oceniających uszkodzenia drzew przez szkodniki, np. chrząszcza *Agrilus biguttatus* (Lehmann i inni 2015). Można wykorzystać BSP do monitorowania stanu zdrowotnego drzew (Smigaj i inni 2015), obserwować stan zdrowotny np. świerka pospolitego na podstawie oceny stanu pojedynczych koron (Zmarz i inni 2012, Robaszkiewicz i inni 2014), również w czasie rzeczywistym (Aicardi i inni 2016). Możliwe jest monitorowanie młodników leśnych, lokalizowanie pożarów w lesie oraz pomiarów powierzchni lasu uszkodzonej przez zwierzynę (Szymański 2014). Dodatkowo można monitorować gazy cieplarniane produkowane przez lasy, chociażby w krajach rozwijających się (Mlambo i inni 2017) oraz określać wybrane cechy dendrometryczne (Lisein i inni 2015, Mikita i inni 2016). Bezzałogowcami można też pozyskać dane o wzroście drzew na plantacji (Guerra-Hernández i inni 2017), czy w regularnym lesie (Dempewolf i inni 2017, Chen i inni 2017), nawet z uzyskaniem takich cech, jak wysokość drzewa, średnica korony, pierśnica (Abdollahnejad i inni 2018). Badania wskazują, że przy wykonywaniu zdjęć w warunkach rozproszonego oświetlenia (niebo zachmurzone), istnieją niewielkie różnice między zacienioną i oświetloną częścią korony, co pozwala obserwować całe korony, a także mieć lepszy wgląd do środka drzewostanu (Zmarz, Będkowski 2012). Dodatkowo dane są bardzo przydatne do aktualizacji leśnej mapy numerycznej (Brach i inni 2017), do policzenia liczby drzew (Mohan i inni 2017) i skutecznego zidentyfikowania gatunków (Lisein i inni 2015). Dokonywane są badania leśne, np.: właściwości biofizyczne, las i ich struktura (z wykorzystaniem chmury fotogrametrycznej), skład gatunkowy, nawet w trudnych lasach borealnych w USA (Alonzo i inni 2018), czy lasach Japonii (Ota i inni 2017), Niemiec (Frey i inni 2018), Peru (Messinger i in. 2016). Stwierdzono, że przy takich badaniach, np. tworzeniu chmury punktów wysokościowych z pomocą kamery, duży wpływ ma oświetlenie obiektów oraz prędkość wiatru (Dandois i in. 2015). Ważne jest

utrzymywanie tej samej wysokości lotu w przypadku pomiarów zmian szerokości korony i wysokości drzew: im wyższa wysokość, tym mniejsza dokładność pomiarów (Johansen i inni 2018). Po ścinie i utworzeniu danej rębni, leśnik wykonujący nalot może wykorzystać ortofotomapę do zlokalizowania i policzenia pniaków (Puliti i inni 2018) oraz zbadać erozję – przemieszczanie się gleby leśnej (Pierzchała i in. 2014).

Klasyfikacja obrazu


W teledetekcji jedną z ważniejszych kwestii jest klasyfikacja obrazu, która może ukazać użytkownikowi istotę badanego problemu. Każda klasyfikacja wymaga odpowiedniego dobrania kanałów spektralnych, najpopularniejsze są te z pasma widzialnego, ale również z zakresu bliskiej podczerwieni i innych kanałów spektralnych. W celu lepszego uzyskania efektu w kompozycji barwnej CIR (ColorInfra Red), warto wykonywać zdjęcia wiosną, nie zaś latem czy jesienią, bo kolor czerwony będzie bardziej intensywny na drzewach liściastych (Zawiła-Niedźwiecki 2010). Klasyfikacje można podzielić na cyfrowe ze względu na technikę rozpoznawania obiektów. Pierwsza, najpopularniejsza klasyfikacja jest dokonywana ze względu na wartość jasności piksela na obrazie, druga – ze względu na charakterystykę tekstury i struktury. Trzecia, najbardziej złożona, jest klasyfikacja obiektowa (tzw. OBIA – Object Based Image Analysis), gdzie wydzielany jest dany obiekt na podstawie analizy między teksturą, powierzchnią, jasnością oraz tłem tematycznym. Inny sposób podziału klasyfikacji uwzględnia poziom automatyzacji. Wyróżnia się trzy. Pierwsza to klasyfikacja manualna polegająca na ręcznej digitalizacji ekranowej danego obiektu. To metoda najdokładniejsza ze wszystkich, żaden algorytm nie jest w stanie zastąpić człowieka, jednak jest najbardziej czasochłonna. Kolejna jest klasyfikacja nadzorowana (supervised classification), czyli metoda półautomatyczna. Tu użytkownik ma szeroki dobór parametrów i możliwość wprowadzania sygnatur wzorcowych (pól treningowych). Wskazywanie programowi grupy pikseli reprezentujących daną klasę skutkuje bardzo dobrymi wynikami. Trzecią metodą jest klasyfikacja nienadzorowana (unsupervised classifi-



cation), czyli automatyczna, polegająca na działaniu automatycznych algorytmów; użytkownik ma jedynie możliwość wyboru podstawowych parametrów (Adamczyk, Będkowski 2007). Wielu korzysta z możliwości klasyfikacji nadzorowanej i nienadzorowanej w swoich badaniach naukowych. Przykładem może być praca z wykorzystaniem zobrażeń z BSP wraz z kanałem podczerwieni oraz testowanie, która klasyfikacja jest lepsza. Wykazano, że poprawność klasyfikacji dla metody ISODATA (nienadzorowana – automatyczna) wynosiła 50%/Kappa 0,4, zaś dla metody największego prawdopodobieństwa (nadzorowana – półautomatyczna) – blisko 80%/Kappa 0,75 (Gini i inni 2014). Jest coraz więcej różnych zminiaturyzowanych czujników hiperspektralnych dla BSP wykorzystywanych w rolnictwie i leśnictwie (Adão i inni 2017). Generalnie, znacząca większość artykułów naukowych oparta jest o drogie platformy BSP, budowane do specjalistycznych zadań, np. wykorzystania kamery hiperspektralnej do mapowania uszkodzeń od kornika (Näsi i inni 2015). Wadą takich kamer jest generowanie ogromnej ilości danych, za sprawą pobierania zestawów widm spektralnych składających się z setek pasm wraz z bardzo dobrą rozdzielczością przestrzenną (Adão i inni 2017). Dzięki takim rozwiązaniom technologicznym można dokonywać wielu klasyfikacji tematycznych, jak np. połączenie danych z kamery hiperspektralnej i LIDARu w klasyfikacji i detekcji drzew w mieście (Alonzo i inni 2014). Podstawowe zobrażenia RGB są również bardzo skuteczne w klasyfikacji różnych obszarów, jak np. w badaniach archeologicznych kamieniołomów (Megarry i inni 2018). Badania wykazują, że dokładność takich klasyfikacji (metoda największego prawdopodobieństwa) z użyciem spektrometru jest różna w zależności od badanego obiektu. Przykładowo, trawa została poprawnie zaklasyfikowana w 58%, woda 78%, drzewa 48%, teren przetworzony przez człowieka 45%, interpolacja danych spektrometrycznych w klasyfikacji np. dróg nie jest skuteczna (Natesan i inni 2018). Z powodzeniem jest również wykorzystywana klasyfikacja obiektowa np. podczas monitoringu roślinności nabrzeżnej. Wykorzystano w tym badaniu BSP ze zintegrowanym GNSS RTK do mapowania terenu oraz zaproponowano nowe algorytmy

klasyfikacji obiektowej, które poprawiły klasyfikację z 84% na 96% poprawności (Meng i inni 2017). Wykonano wiele badań z wykorzystaniem klasyfikacji obiektowej uzyskanej z naltów fotogrametrycznych niskiego pułapu z pomocą BSP (Laliberte i inni 2010). Istnieje technologia nazwana autorsko Hyper-Drelio (Hyperspectral-DRone for Environmental and Littoral Observations), z kamerami hiperspektralnymi, która umożliwia rejestrację danych w rozdzielczości przestrzennej poniżej 10 cm na obszarze do 4 ha, w rozdzielczości spektralnej 1,85 nm i dokładnością georektyfikacji na poziomie 1 do 2 m (Jaud i inni 2018). Do poprawy georeferencji powstałej ortofotomapy hiperspektralnej z powodzeniem wykorzystuje się wykrywanie i wiązanie referencyjnych punktów na ortofotomapie RGB, wykonanej innym BSP (Habib i inni 2016).

BSP w przyszłości

Dąży się do budowy nowych konstrukcji BSP, realizacji autonomicznych lotów niskiego pułapu (Sawicki 2012). Wykorzystanie BSP będzie znacznie większe dzięki lekkim konstrukcjom, miniaturyzacji kamer wielospektralnych i hiperspektralnych (Nackaerts i inni 2010, Scholtz i inni 2011). Kamery hiperspektralne staną się tańsze i bardziej dostępne. (Adão i inni 2017). Następnym prawdopodobnym krokiem będą całkowicie autonomiczne drony, samodzielnie omijające przeszkody i podążające do określonego celu (Vaneges, Gonzalez 2016), nawet mając tylko jedną kamerę (Ambroziak i in. 2011). Będą samodzielnie startowały jako wielowirnikowce wznosząc się pionowo, następnie przestawiając tryb lotu na samolotowy (zmieniając kierunek działania siły ciągu lub uruchamiając silnik do lotu poziomego – VTOL), by po dotarciu do celu ponownie zmienić tryb lotu (Hadi i inni 2015). 

piśmiennictwo dostępne u Autorów



Badanie USG bydła

możliwości wykorzystania w praktyce terenowej

Katarzyna Żarczyńska, prof. UWM

Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Badanie ultrasonograficzne jest szczególnie istotne w przypadku, kiedy nie można postawić pełnego rozpoznania za pomocą badania klinicznego lub innych badań dodatkowych.

W ostatnich latach w praktyce weterynaryjnej opracowano i wprowadzono wiele nowych metod diagnostyki obrazowej. Najbardziej powszechne jest badanie ultrasonograficzne, dzięki któremu możliwy stał się wgląd do wnętrza narządów, do tej pory dostępnych do oceny tylko podczas zabiegu operacyjnego (laparotomia diagnostyczna) bądź badania pośmiertnego, które często było badaniem weryfikującym postawioną diagnozę. Koszty związane z czasem potrzebnym na postawienie prawidłowego rozpoznania lub/i błędną diagnozą i upadkiem zwierząt, leczeniem oraz spadkiem wydajności mlecznej przyczyniają się do znacznych strat ekonomicznych. Dlatego zastosowanie metod diagnostycznych, które doprowadzą do źródła problemu, odgrywa istotną rolę w codziennej praktyce lekarza weterynarii. Wykorzystanie ultrasonografii, nie tylko w diagnostyce ginekologiczno-położniczej ale również w rozpoznaniu chorób, takich jak m.in. BRD, stłuszczenie wątroby czy zaburzeń ze strony układu pokarmowego, zyskuje coraz więcej zwolenników.

Badanie USG przeprowadza się na zwierzęciu stojącym, bez sedacji, przy użyciu sondy liniowej lub konweksowej – o częstotliwości 3,5-7,5 MHz. Dla uzyskania dobrej jakości obrazu nie jest konieczne usuwanie sierści ani używanie żelu. Jako środek przenoszący ultradźwięki wykorzystywany jest alkohol izopropylowy (70%) наносzony na sierść za pomocą butelki z rozpylaczem.

Badanie ultrasonograficzne płuc

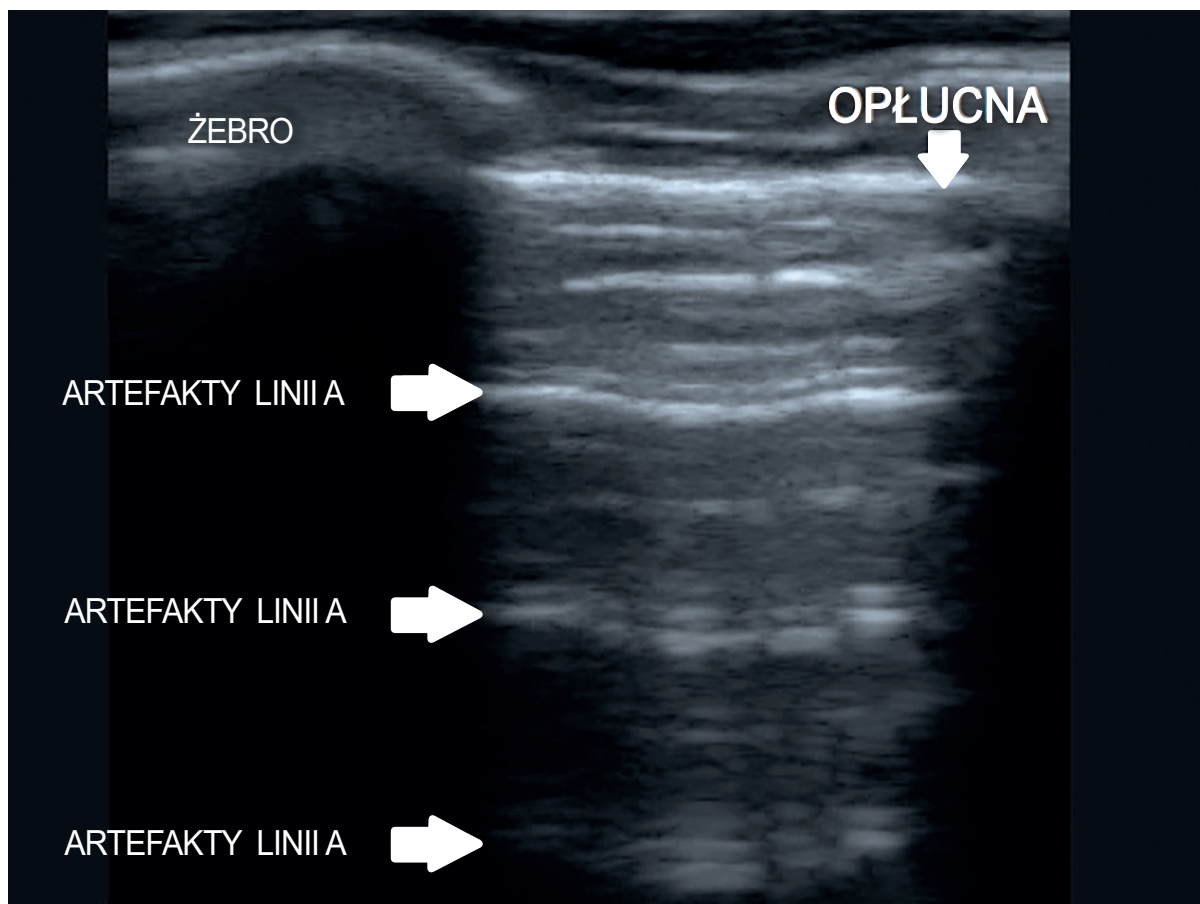
Ultrasonografia klatki piersiowej jest szybką, nieinwazyjną metodą diagnostyczną i prognostyczną wykorzystywaną do wykrywania nieprawidłowości zlokalizowanych w obszarze płuc (Ollivett, Buczinski 2016). Przyżyciowe wykrywanie zmian w płucach za pomocą ultrasonografii jest silnie skorelowane z wynikami badania pośmiertnego (Baruch i in. 2019).

Do przeprowadzenia badania ultrasonograficznego płuc cieląt wystarczy powszechnie stosowana głowica rektalna. Maksymalna głębokość wiązki ultradźwiękowej powinna wynosić 8-10 cm dla cieląt większych oraz 6-8 cm dla cieląt mniejszych. Należy ocenić obie strony klatki piersiowej. Przyłożenie sondy do klatki piersiowej w przestrzenie międzyżebrowe może być dwojakie: prostopadłe lub równoległe do podłoża. Ułożenia sondy prostopadłe do podłoża nie możemy zastosować w momencie, gdy chcemy zbadać szczytowe partie płuc, znajdujące się pod łopatką – tam jako pierwsze pojawiają się zmiany charakterystyczne dla BRD. W tym wypadku wymagane jest wyłącznie ułożenie sondy równoległe do podłoża i „wciśnięcie” jej pod łopatkę. Kluczem do dokładnego skanowania jest systematyczna ocena, zaczynając od dziesiątej przestrzeni międzyżebrowej i przesuując się doczaszkowo do pierwszej przestrzeni międzyżebrowej dla prawego płuca i od dziesiątej prze-

strzeni międzyżebrowej do drugiej przestrzeni międzyżebrowej dla płuca lewego. W momencie wykonywania badania ultrasonograficznego jednego osobnika, który wykazuje zaburzenia ze strony układu oddechowego, zaleca się skanowanie całej klatki piersiowej – od dziesiątej przestrzeni międzyżebrowej w kierunku doczaszkowym. U zwierząt w zaawansowanym stadium BRD bardzo ważna jest ocena płata doogonowego płuca prawego i lewego (6-10 pmż), gdyż w nich lokalizują się ropnie płucne. Podczas badania przesiewowego grupy cieląt można zastosować inne podejście niż to stosowane w badaniu pojedynczego, chorego zwierzęcia. Odoskrzelowe zapalenie płuc lokalizuje się w obszarze trzech płatów płuc, szczególnie w początkowej fazie choroby. W pierwszej kolejności zmiany pojawiają się w części przedniej płata przedniego płuca prawego, następnie w płacie środkowym płuca prawego i części tylnej płata przedniego płuca lewego. W ogólnej populacji młodego bydła, za-

palenie oskrzeli rzadko występuje w płatach ogonowych płuc bez uprzedniego zajęcia przednich części płuc. Jednak w tym obszarze tworzą się ogniskowe ropnie płucne a w oparciu o doświadczenia kliniczne stwierdzenie w obrazie ropni i/lub konsolidacji jest prognostycznie niepomyślne (Buczinski in. 2014).

W badaniu ultrasonograficznym klatki piersiowej można uwidocznić tkankę podskórną, ścianę jamy brzusznej, mięśnie międzyżebrowe, opłucną ścienną i powierzchnię płuc (opłucną płucną). Tłuszcz podskórny i tkanka łączna są bardziej echogeniczne w porównaniu z tkanką mięśniową. W prawidłowych warunkach linia opłucnej, na którą składają się opłucna ścienna, opłucna płucna i niewielka ilość płynu między tymi błonami, widoczna jest jako silnie hiperechogeniczne, linijne pasmo, odgraniczające struktury klatki piersiowej od miększu płuc. Poniżej tej linii widoczne jest tylko stosunkowo jednorodnie echogeniczne odbicie bez możliwości wyróż-



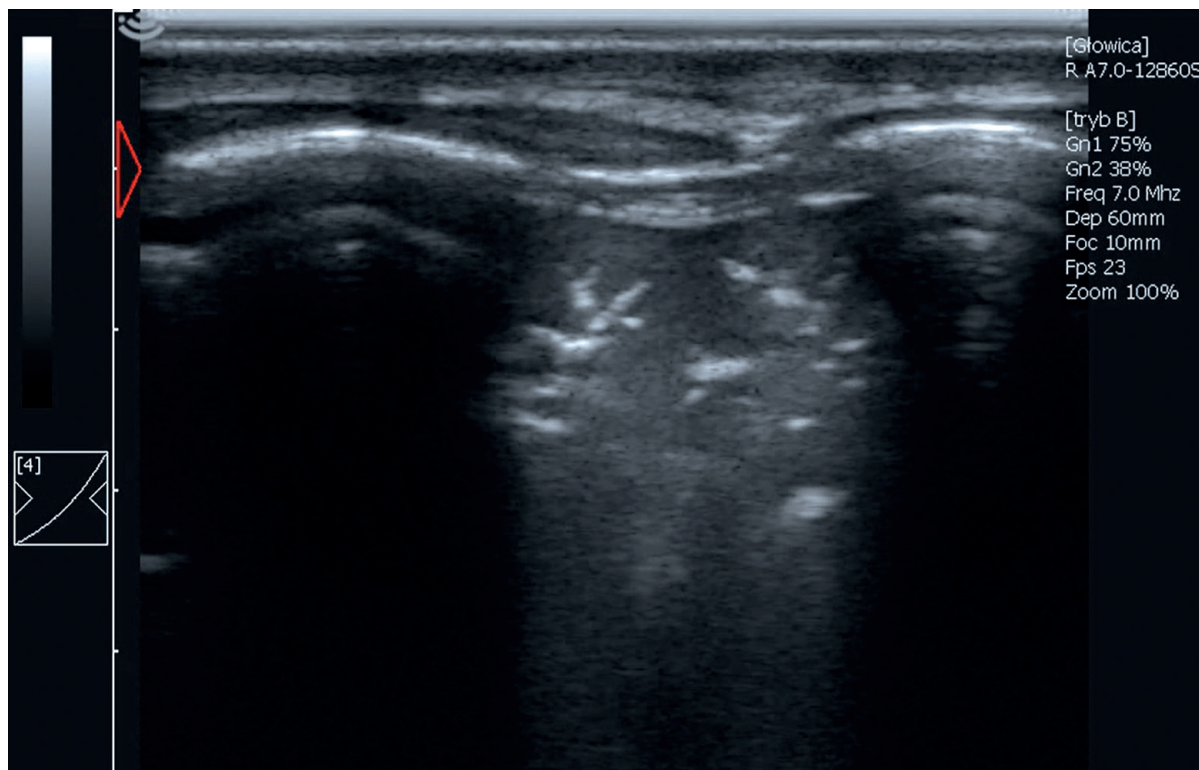
ryc. 1. Prawidłowy obraz płuc. Artefakty Linii A.



nienia jakichkolwiek struktur i kilka artefaktów ultrasonograficznych obserwowanych w obrazie prawidłowym. Większość artefaktów, zarówno fizjologicznych, jak i patologicznych, wywodzi się z linii opłucnej. Artefakty ultrasonograficzne można podzielić na dynamiczne i statyczne. Do artefaktów dynamicznych należy artefakt określany jako „ślizganie się płuca” bądź „ruch szybowcowy”. Powstaje on na linii opłucnej, w wyniku przemieszczania się zgodnie z akcją oddechową opłucnej płucnej względem nieruchomej opłucnej ściennej, jako konsekwencja zmian w objętości płuca i jest zdecydowanie lepiej widoczny w przypadkowych partiach płuc niż w szczytowych. Do artefaktów statycznych należą artefakty linii A – poziome, hiperechogeniczne linie, równoległe do linii opłucnej, będące tzw. artefaktami rewerberacji – wielokrotnymi, coraz słabszymi kopiami linii opłucnej. Odległość między nimi jest równa odległości pomiędzy linią opłucnej a głowicą (ryc. 1). Z kolei pionowe, hiperechogeniczne linie o charakterze ogona komety określane są artefaktami linii B. Artefakty te mają swój początek na linii

opłucnej, widoczne są na całej długości ekranu i przemieszczają się zgodnie z ruchami opłucnej płucnej. Powstają w wyniku obecności niewielkiej ilości płynu pod opłucną płucną (najczęściej w przegrodach międzypęcherzykowych) i zazwyczaj nie współistnieją z artefaktami linii A. Obecność jednego lub dwóch artefaktów linii B w jednym przyłożeniu głowicy wykonanym w dowolnym miejscu klatki piersiowej uznawane jest za normę (Żarczyńska 2020).

Najbardziej charakterystycznymi patologiami obserwowanymi podczas badania ultrasonograficznego płuc cieląt z podkliniczną jak i kliniczną formą syndromu oddechowego jest konsolidacja. Zagęszczenie tkanki płucnej, które powoduje bezpowietrzność płuca, występuje wówczas, gdy powietrze w pęcherzykach płucnych jest zastępowane przez płyn, komórki lub wysięk komórkowy, zwykle bez znaczącej zmiany objętości płata płuc. Zmienione obszary mogą być ogniskowe i miejscowe, a także mogą obejmować płat lub kilka płatów płuc. Warunkiem zobrazowania zmian zapalnych jest ich bezpośredni kontakt z opłucną i tylko takie zmiany



ryc. 2. Ultrasonogram płuc cielęcia z podklinicznym przebiegiem BRD. Zmiany zlokalizowane w płucu prawym, w drugiej przestrzeni międzyżebrowej.



możemy stwierdzić w badaniu ultrasonograficznym. Nie stanowi to jednak ograniczenia metody, gdyż niemal 100% istotnych klinicznie zmian ma taką lokalizację (Tharwat, Oikawa 2011). Charakterystyczny obraz występujący przy niewielkich zmianach w płucach (postać podkliniczna) to okrągłe, wielkości od kilku milimetrów do kilku centymetrów, hipoechogeniczne strefy, którym często towarzyszy artefakt w postaci „ogona komety” (artefakty linii C) (ryc. 2). Zmiany te lokalizują się w szczytowych partiach płuc. W miarę rozwoju, zmiany rozprzestrzeniają się w głąb miąższu płuc a obszary konsolidacji najczęściej są nieregularne o postrzępionych brzegach. Mogą być jednorodny, chociaż częściej obserwuje się obszary niejednorodny echogenicznie (Flöck 2004).

Badanie ultrasonograficzne przewodu pokarmowego

Fizjologicznie po lewej stronie jamy brzusznej widoczne są: czepiec, śledziona, żwacz i część trawieńca, zaś po prawej stronie: wątroba, czepiec, księgi, część trawieńca, jelito cienkie i grube oraz prawa nerka (Braun 1990, Braun i Gotz 1994, Braun i Marmier 1995, Braun 2009).

Czepiec: w obrazie USG widoczny jest jako struktura w kształcie półksiężyca z gładkim konturem, który kurczy się w regularnych odstępach czasu, a w momencie rozkurczu znajduje się bezpośrednio przy przeponie i ścianie brzucha. Zazwyczaj nie można zobrazować poszczególnych warstw ściany czepca oraz typowej dla tego narządu struktury przypominającej plaster miodu. Ze względu na obecność gazu w czepcu nie jest możliwe uwidocznienie jego zawartości, podobnie jak zobrazowanie ciał obcych czy magnesów, które się w nim znajdują. Wykonując badanie po lewej stronie zwierzęcia doogonowo od czepca widoczna jest ściana przedsonka żwacza, bruzda żwaczowo-czepcowa i ściany worka brzuszny żwacza w postaci echogenicznych linii. Po prawej stronie klatki piersiowej, w jej przednio-brzusznej części, w sąsiedztwie czepca można zobrazować część ksiąg i trawieńca oraz u części zwierząt również wątrobę (Braun, Gotz 1994, Żarczyńska 2020).

Urazowe zapalenie czepca i otrzewnej po pobraniu metalicznych ciał obcych jest jedną

z najstarszych chorób rozpoznawanych u bydła. Mimo że obecnie występuje rzadziej, ze względu na specyfikę utrzymania zwierząt, nadal w wielu gospodarstwach jednostka ta stanowi duży problem. U bydła z urazowym zapaleniem czepca i otrzewnej badanie ultrasonograficzne może posłużyć do identyfikacji zmian morfologicznych zlokalizowanych w części doczaszowej, doobrzusznej lub doogonowej czepca (Braun i in 1993). Najczęściej obserwowane są patologie w tylnobrzusznej ścianie czepca, które mogą objąć również przedsonkę żwacza. Zmiany w obrysie ściany czepca zależą od nasilenia procesu zapalnego. Na błonie surowiczej czepca często obserwuje się złogi włókniaka przeplatanego kieszeniami płynowymi, co w obrazie ultrasonograficznym widoczne jest jako obszary echogeniczne (włókniak) ze współistniejącymi hipoechogenicznymi obszarami płynowymi. Stronty składające się wyłącznie z włókniaka są jednorodnie echogeniczne (Braun 2003).

Żwacz: w obrazie ultrasonograficznym jego ściana widoczna jest jako echogeniczna linia, zazwyczaj bez możliwości rozróżnienia warstw samej ściany. Obraz USG zawartości żwacza odpowiada typowemu rozwarstwieniu treści u przeżuwalcy. Pojawiające się artefakty rewerberacji, widoczne w okolicy grzbietowej, biegnące równoległe do ściany, są efektem obecności gazu – kopuła gazowa. Obraz części żwacza, w której lokalizuje się frakcja stała treści (mata włóknista), to echogeniczna masa z wtrąceniami gazowymi. Z kolei warstwa płynu zgromadzona w brzusznej części żwacza ma charakter hipoechogeniczny (Tschuor, Clauss 2008).

Księgi: są widoczne od 6. do 11. przestrzeni międzyżebrowej jako gruba echogeniczna linia w kształcie półksiężyca (Braun, Blessing 2006). Wielkość ksiąg zmienia się w zależności od przestrzeni w której są badane od około 17 do 60 cm. Największą wielkość narząd osiąga w 9. przestrzeni międzyżebrowej i zmniejsza się do czaszkowo i doogonowo. Księgi najbliższej prawej ściany brzucha znajdują się w 8. i 9. przestrzeni międzyżebrowej, a u wielu krów w tym rejonie bezpośrednio do niej przylegają. W przeciwieństwie do czepca, księgi zdrowych krów nie wykazują widocznej motoryki. Również blaszki ksiąg z reguły nie mogą być zobrazowane u zdrowych zwierząt z powodu obecności gazu



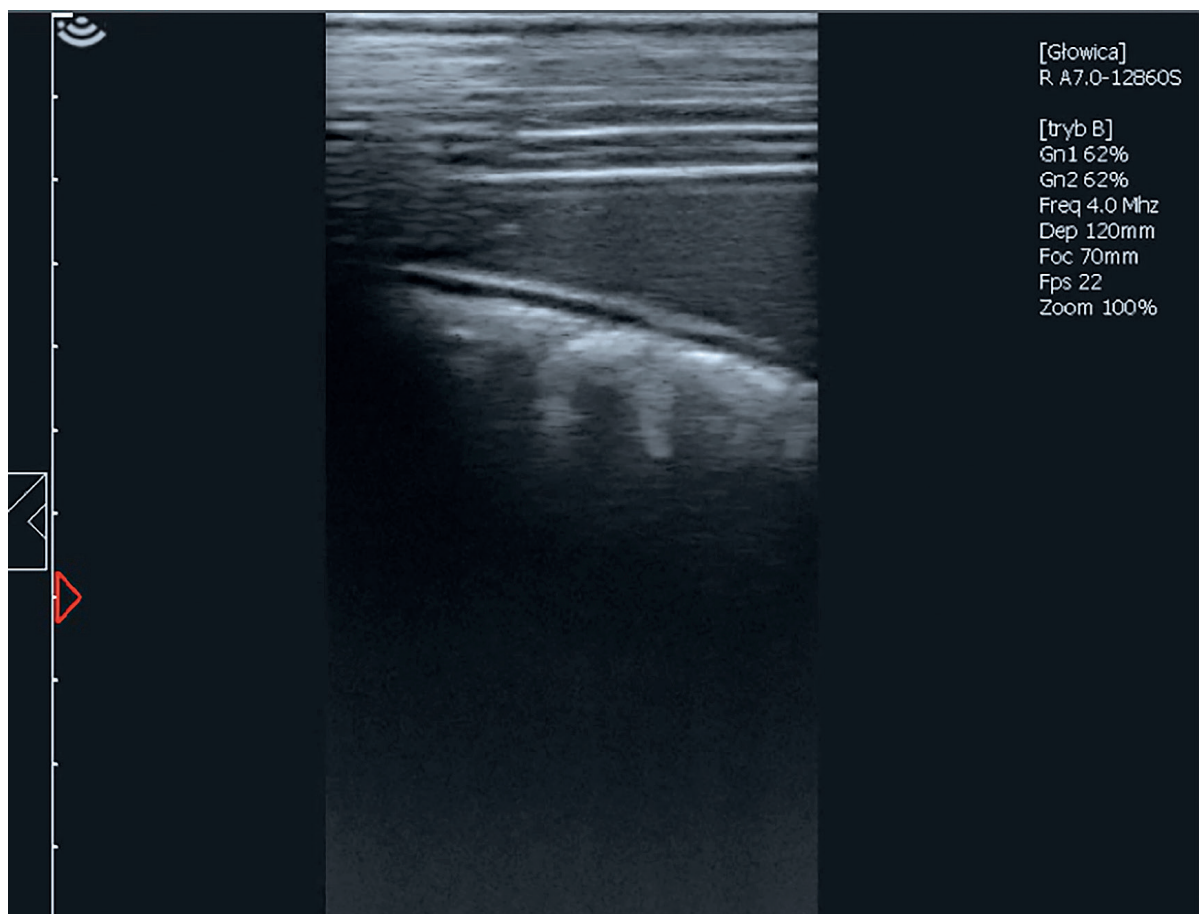
w świetle narządu. Czasami blaszki ksiąg mogą być widoczne jako krótkie, echogeniczne struktury w kształcie stożka, które uwypuklają się do wnętrza narządu (Żarczyńska 2020) (ryc. 3).

Trawieniec: jest luźno zawieszony na sieci większej i mniejszej, co w sprzyjających warunkach może prowadzić do jego przemieszczenia z fizjologicznej pozycji na lewą (LPT) lub prawą (PPT) stronę jamy brzusznej. Badanie ultrasonograficzne to doskonałe narzędzie pozwalające ocenić rozmiar, położenie oraz zawartość trawieńca. Ściana żołądka w obrazie widoczna jest jako cienka, echogeniczna linia, a sam trawieniec łatwo można odróżnić od sąsiednich narządów ze względu na charakterystyczny wygląd zawartości, która widoczna jest jako niejednorodna, umiarkowanie echogeniczna masa z licznymi echogenicznymi punkcikami. U niektórych zwierząt podczas badania obserwuje się wewnątrz narządu obecność echogenicznych struktur, będącymi fałdami błony śluzo-

wej trawieńca. Przy dłuższej obserwacji można zauważyć bierny, powolny ruch zawartości trawieńca (Braun i in. 1997a).

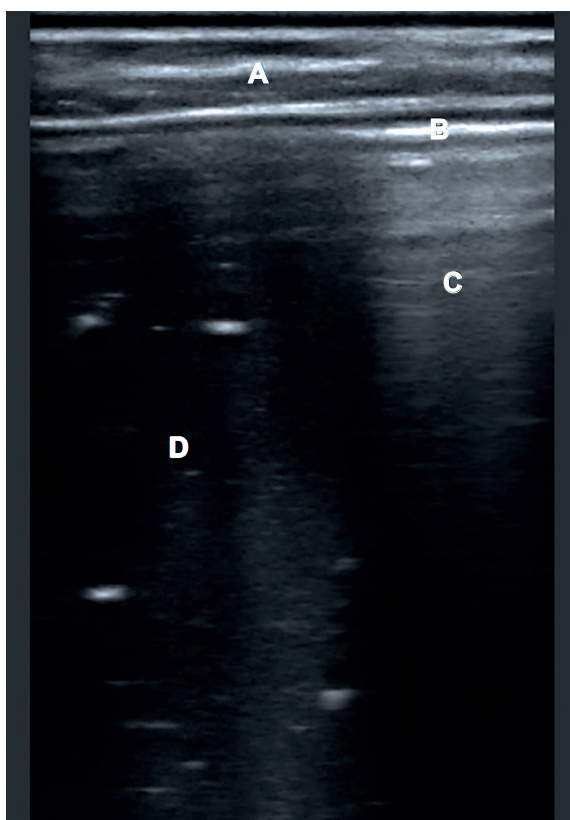
Lewostronne przemieszczenie trawieńca

Badanie ultrasonograficzne jest szczególnie przydatne do potwierdzenia przemieszczenia trawieńca na stronę lewą. W tym celu badanie należy wykonać w trzech-czterech ostatnich przestrzeniach międzyżebrowych po lewej stronie jamy brzusznej za pomocą głowicy przyłożonej równoległe do żeber, zaczynając badanie od dolnej części jamy brzusznej i kierując się ku grzbietowi zwierzęcia. Fizjologicznie w tej okolicy żwacz przylega bezpośrednio do ściany brzucha, co w obrazie USG widoczne jest jako gruba, gładka, hiperechogeniczna linia, w przebiegu której występuje wcięcie będące bruzdą podłużną lewą. W górnej części jamy brzusznej



ryc. 3. Obraz ultrasonograficzny ksiąg. Blaszki uwypuklające się do wnętrza narządu.

nie można zobrazować zawartości żwacza ze względu na obecność kopuły gazowej. Przy lewostronnym przemieszczeniu trawieńca ściana żwacza bezpośrednio przylega do ściany brzucha w dolnej części jamy brzusznej, natomiast gdy głowicę przesuwamy dogrzbietowo wzdłuż przestrzeni międzyżebrowych, można zauważyć, że odsuwa się ona od ściany jamy brzusznej i w pewnym momencie nie jest już widoczna na ultrasonogramie. Zamiast tego widać trawieniec, który znajduje się pomiędzy ścianą brzucha a żwaczem. Podczas dalszego dogrzbietowego przesuwania głowicy, trawieniec „znika”, a żwacz ponownie pojawia się na ekranie (Ok i in. 2002). W obrazie ultrasonograficznym zawartość trawieńca jest niejednolita: w części dobrzusznej narządu znajduje się treść o charakterze hipoechogenicznym, z kolei w części grzbietowej kopuła gazowa z artefaktami rewerberacji, podobnymi do tych, które widoczne są



ryc. 4. Obraz ultrasonograficzny przemieszczonego trawieńca na granicy gaz/treść pokarmowa: A – ściana brzucha, B – ściana trawieńca, C – kopuła gazowa trawieńca z artefaktami rewerberacji, D – treść pokarmowa.

podczas badania ultrasonograficznego płuc (Li i in. 2018) (ryc. 4). Artefakty te widoczne są jako linie o różnej echogeniczności, które biegną równoległe do powierzchni (ściany) trawieńca i stają się słabsze wraz ze wzrostem odległości od głowicy, a na głębokości 7-8 cm nie są już obecne (Braun i in. 1997b). Sporadycznie, między treścią pokarmową mogą być widoczne fałdy trawieńca jako echogeniczne struktury w kształcie sierpa (Braun 2009).

Prawostronne przemieszczenie trawieńca

Ultrasonografia to przydatne narzędzie diagnostyczne w wątpliwych przypadkach przemieszczenia trawieńca na stronę prawą (Braun 2009). W celu potwierdzenia lub wykluczenia tej patologii należy zbadać obszar znajdujący się bezpośrednio za ostatnim żebrzem oraz ostatnie trzy-cztery przestrzenie międzyżebrowe po prawej stronie jamy brzusznej, za pomocą głowicy przyłożonej równoległe do żeber, zaczynając badanie od dolnej części jamy brzusznej i kierując się ku grzbietowi zwierzęcia (Braun 2005). W tym obszarze fizjologicznie można zobrazować pętle jelita cienkiego w przekroju poprzecznym i czasami bardziej dobrzusznie – w przekroju podłużnym oraz bardziej dogrzbietowo wątrobę w bezpośrednim sąsiedztwie prawej ściany brzucha. U zwierząt z prawostronnym przemieszczeniem trawieńca wątroba jest przesunięta do wnętrza jamy brzusznej i nie można jej zobrazować. Z kolei trawieniec znajduje się tam, gdzie normalnie powinna znajdować się wątroba, czyli w bezpośrednim sąsiedztwie ściany jamy brzusznej. Jego ultrasonograficzny obraz jest taki sam, jak opisany wcześniej dla przemieszczenia na stronę lewą (Braun 2003, Ok i in. 2002). Badanie USG nie pozwala na odróżnienie prawostronnego przemieszczenia trawieńca bez skrętu od przemieszczenia ze skrętem. W obu schorzeniach wątroba, księgi oraz pętle jelita cienkiego i grubego mogą być przemieszczone w zależności od wielkości trawieńca (Braun 2009).

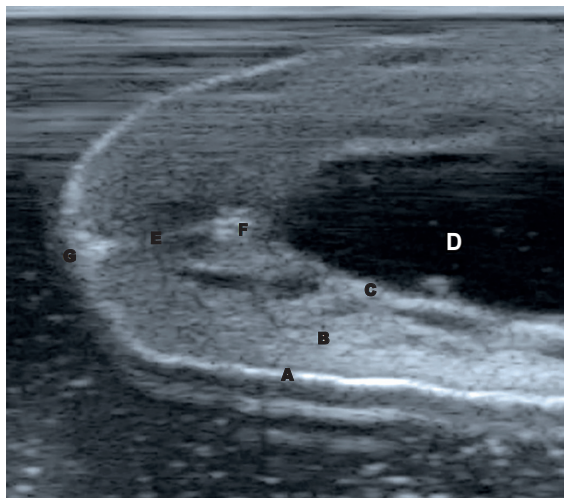
Badanie ultrasonograficzne strzyków

Jednym z najskuteczniejszych i najczęściej stosowanych na świecie narzędzi umożliwiających

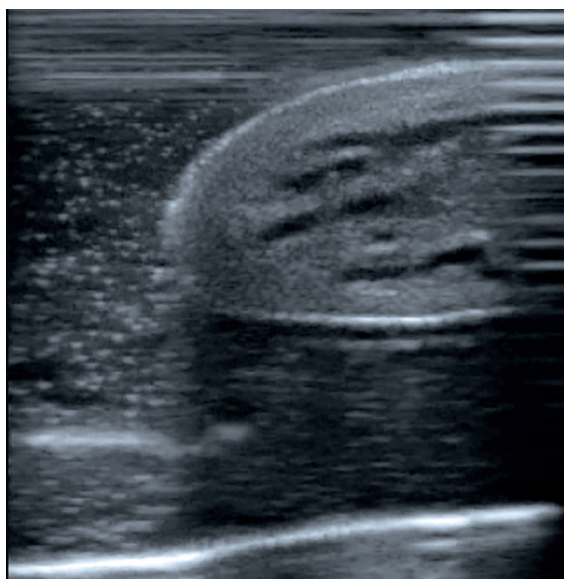


dokładną i szybką ocenę zmian morfologicznych wymienia i strzyków u przeżuwaczy jest ultrasonografia. Badanie to można wykonać w celu zdiagnozowania zaburzeń przepływu mleka oraz oceny wewnętrznej struktury anatomicznej strzyka: długości i średnicy kanału strzykowego, średnicy zatoki strzykowej, czy grubości ścianki strzyka. Badanie strzyków przeprowadza się z wykorzystaniem sondy liniowej o częstotliwości co najmniej 7.5 MHz (Cartee i in. 1986) i, podobnie jak w przypadku wymienia, może być przeprowadzone poprzez bezpośrednie przyłożenie głowicy do skóry. Stosując tę metodę należy się liczyć z koniecznością znacznego dociśnięcia sondy do tkanek, w celu pozbycia się powietrza, którego obecność między głowicą a powierzchnią strzyka uniemożliwia prawidłowe przeprowadzenie badania. Jednak zbyt mocne dociśnięcie powoduje odkształcenie strzyka, szczególnie w jego końcowym odcinku, co utrudnia wizualizację kanału strzykowego na całej długości (Seeh i in. 1996, Franz i in. 2009). Ze względu na wspomniane ryzyko odkształcenia, podstawową techniką badania ultrasonograficznego strzyków, która pozwala na uzyskanie najlepszej jakości obrazu, jest metoda „kąpieli wodnej” (Franz i in. 2009). Technika ta polega na zanurzeniu strzyka w pojemniku wypełnionym ciepłą wodą (30–35°C) i przyłożeniu głowicy poziomo lub pionowo bezpośrednio do pojemnika (Fasulkov 2012). W obrazie ultrasonograficznym ścianę strzyka obserwuje się jako trójwarstwową strukturę, gdzie zewnętrzną warstwę stanowi skóra, która widoczna jest jako cienka, hiperechogeniczna linia o grubości 1–2 mm. Tuż pod nią lokalizuje się warstwa tkanki mięśniowej i łącznej, która jest znacznie grubsza, jednorodna, o mniejszej echogeniczności niż skóra. Zlokalizowane w tej warstwie naczynia krwionośne widoczne są jako drobne, bezechowe jamy. Granica wewnętrzna ścianki strzyka to błona śluzowa, która widoczna jest jako wyraźnie hiperechogeniczna, cienka linia (Ragab i in. 2016). Prawidłowy kanał strzykowy widoczny jest jako cienka, hiperechogeniczna linia ograniczona z każdej strony przez równoległe hipoechogeniczne lub bezechowe obszary (ryc. 5). Histologicznie środkowa hiperechogeniczna linia odpowiada warstwie rogowej naskórki z keratyną, natomiast otaczający ją obszar o zmniejszo-

nej echogeniczności – warstwie ziarnistej (Franz i in. 2009). Przejście między kanałem strzyka a zatoką strzykową – rozeta Fürstenberga, w ultrasonogramie widoczne jest jako 2 do 5 równoległych, krótkich, hiperechogenicznych linii, kierujących się z kanału strzykowego do zatoki strzykowej (Khol i in. 2006). Zatoka strzykowa to z kolei bezechowy obszar otoczony hiperechogeniczną błoną śluzową, który nie może zo-




ryc. 5. Ultrasonogram strzyka wykonany metodą „kąpieli wodnej”, przekrój podłużny. A – skóra, B – warstwa tkanki mięśniowej i łącznej, C – błona śluzowa, D – zatoka strzykowa, E – kanał strzykowy, F – rozeta Fürstenberga, G – ujście kanału strzykowego.



ryc. 6. Strzyk – częściowa niedrożność w obszarze zatoki strzykowej.



stać uwidoczniiony bez obecności w niej mleka (krowy w zasuszeniu) (Szenczióvá, Strapák 2012). Granicę między zatoką wymieniową a strzykową stanowią okrągłe bezechowe struktury będące żyłami budującymi pierścień żylny Fürstenberga. Aby zobrazować ten obszar wykorzystuje się bezpośredni kontakt głowicy ze skórą (Franz i in. 2009). Zmiany w obrębie zatoki strzykowej powodujące utrudniony przepływ mleka mogą mieć charakter ogniskowy lub rozszany. Mogą też obejmować znaczną część strzyka. Większość niedrożności dotyczących tego obszaru spowodowana jest proliferacją tkanki bliznowatej, uszkodzeniami śluzówki lub zwłóknieniami powstającymi wtórnie na skutek urazów. Z dostępnych danych literaturowych wynika, że najlepszą metodą do oceny drożności strzyków jest ultrasonografia (Dinç i in. 2000). Zwężenia, proliferacje oraz wszelkie niedrożności bez problemu można rozpoznać na podstawie zmiany światła zatoki (ryc. 6). Ze względu na możliwą deformację podczas badania metodą bezpośrednią, najlepiej ocenę drożności strzyków wykonać metodą „kąpieli wodnej”. Do pełnego rozpoznania należy uzyskać zarówno podłużny, jak i poprzeczny obraz narządu.

Podsumowując, ultrasonografia jest łatwą, nowoczesną i nieinwazyjną metodą pozwalającą na obrazowanie wielu narządów wewnętrznych oraz wymienia i strzyków. Niewątpliwymi zaletami tej metody diagnostycznej są również bezpieczeństwo stosowania, dostępność aparatów oraz szybka interpretacja uzyskanego obrazu/wyniku, co pozwala w większości przypadków na natychmiastowe rozpoznanie problemu i postawienie diagnozy. 

Piśmiennictwo:

1. Baruch J., Cernicchiaro N., Cull CA., Lechtenberg KF., Nickell JS., Renter DG. 2019. Performance of multiple diagnostic methods in assessing the progression of bovine respiratory disease in calves challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus and Mannheimia haemolytica. *Journal of Animal Science*. 97(6):2357-2367.
2. Braun U., Blessing S. 2006. Ultrasonographic examination of the omasum in 30 healthy cows. *The Veterinary Record*. 159(24):812-815.
3. Braun U., Gotz M., Marmier O. 1993. Ultrasonographic findings in cows with traumatic reticuloperitonitis. *The Veterinary Record*. 133:416-422.
4. Braun U., Wild K., Guscetti F. 1997a. Ultrasonographic examination of the abomasum of 50 cows. *The Veterinary Record*. 140(4):93-98.
5. Braun U. 1990. Ultrasonographic examination of the liver in cows. *American Journal of Veterinary Research*. 51(10):1522-1526.
6. Braun U. 2003. Ultrasonography in gastrointestinal disease in cattle. *The Veterinary Journal*. 166:112-124.
7. Braun U. 2005. Ultrasound as a decision-making tool in abdominal surgery in cows. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 21:33-53.
8. Braun U. 2009. Ultrasonography of the gastrointestinal tract in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 25: 567-590.
9. Braun U. 2003. Ultrasonography in gastrointestinal disease in cattle. *Veterinary Journal*. 166:112-124.
10. Braun U., Gotz M. 1994. Ultrasonography of the reticulum in cows. *American Journal of Veterinary Research*. 55(3):325-332.
11. Braun U., Marmier O. 1995. Ultrasonographic examination of the small intestine of cows. *The Veterinary Record*. 136(10):239-244.
12. Braun U., Pusterla N., Schonmann M. 1997b. Ultrasonographic findings in cows with left displacement of the abomasum. *The Veterinary Record*. 141:331-335
13. Tschuur A, Clauss M. 2008. Investigations on the stratification of forestomach contents in ruminants: an ultrasonographic approach. *The European Journal of Wildlife Research*. 54:627-633.
14. Buczinski S., Forte G., Francoz D., Bélanger A-M. 2014. Comparison of thoracic auscultation, clinical score, and ultrasonography as indicators of bovine respiratory disease in pre-weaned dairy calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 28(1):234-42.
15. Cartee RE., Ibrahim AK., McLeary D. 1986. B-mode ultrasonography of the bovine udder and teat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 188:1284-1287.
16. Dinç DA, Şendağ S, Aydin İ. 2000. Diagnosis of teat stenosis in dairy cattle by real-time ultrasonography. *The Veterinary Record*, 147:270-272.
17. Fasulkov IR. 2012. Ultrasonography of the mammary gland in ruminants: A review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. 15:1-12.
18. Flöck M. 2004. Diagnostic ultrasonography in cattle with thoracic disease. *The Veterinary Journal*. 167:272-280.
19. Franz S., Floek M., Hofmann-Parisot M. 2009. Ultrasonography of the bovine udder and teat. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*. 25, 669-685.
20. Khol JL., Franz S., Klein D., Lexer D., Walbinger S., Luger K., Baumgartner W. 2006. Influence of milking technique and lactation on the bovine teat by means of ultrasonographic examination. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 119:68-73
21. Li XW., Xu QS., Zhang RH., Yang W., Li Y., Zhang YM., Tian Y., Zhang M., Wang Z., Liu GW., Xia Ch., Li XB. 2018. Ultrasonographic findings in cows with left displacement of abomasum, before and after reposition surgery. *BMC Veterinary Research*, 14:44.
22. Ok M., Arican M., Turgut K. 2002. Ultrasonographic findings in cows with left and right displacement of abomasum. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 153:15-18.
23. Ollivett TL., Buczinski S. 2016. On-farm use of ultrasonography for bovine respiratory disease. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 32(1):19-35.
24. Ragab GH., Seif MM., Qutb MM. 2016. Ultrasonography of the mammary gland in ruminants. *Journal of Veterinary Medical Research*, 23:125-132
25. Seeh C., Hospes R., Bostedt H. 1996. Use of visual methods (sonography/endoscopy) for the diagnosis of a webbed teat in cattle – a case report. *Tierärztliche Praxis*, 24:438-442
26. Szenczióvá I., Strapák P. 2012. Ultrasonography of the udder and teat in cattle: perspective measuring technique. *The Slovak Journal of Animal Science*. 45:96-104.
27. Tharwat M., Oikawa S. 2011. Ultrasonographic evaluation of cattle and buffaloes with respiratory disorders. *Tropical Animal Health and Production*, 43:803-810.
28. Żarczyńska K. 2020. Ultrasonografia w diagnostyce chorób układu pokarmowego bydła cz. 1 – obraz prawidłowy. *Lecznica dużych zwierząt*. 4: 40-47
29. Żarczyńska K. 2020. Wykorzystanie ultrasonografii w diagnostyce BRD cieląt. *Weterynaria w terenie*. 1: 18-25.



Zakażenia wirusem BVD-MD w Polsce

aktualny status epizootyczny

Mirosław Polak

Zakład Wirusologii, Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Wyniki dodatnie na obecność przeciwciał dla wirusa BVD-MD w próbkach mleka zbiorczego uzyskano we wszystkich badanych województwach. Stada dodatnie stanowiły 35% zbadanych gospodarstw.

Zwalczanie zakażeń bydła wirusem BVD-MD, poprzez identyfikację i eliminację jego siewców, pozwala na zwiększenie efektywności produkcji. Jest to możliwe m.in. dzięki zmniejszeniu kosztów ponoszonych na leczenie zwierząt, zwłaszcza w przypadku infekcji wtórnych bydła związanych z immunosupresyjnym oddziaływaniem wirusa na organizm gospodarza. Przykład wielu krajów Europy Zachodniej, w których wdrożono programy zwalczania zakażeń bydła wirusem BVD-MD pokazuje, że jest to proces dający konkretne efekty ekonomiczne. Koszty związane z obecnością wirusa w stadzie są bowiem porównywalne do kosztów zwalczania stanów zapalnych wymion u krów mlecznych.

Jak potwierdzić obecność wirusa w stadzie?

Podstawowym pytaniem przed wprowadzeniem programu eliminacji siewców wirusa jest kwestia potwierdzenia obecności wirusa w stadzie. Powinowactwo wirusa BVD-MD do wielu układów i narządów gospodarza sprawia, że obraz kliniczny zakażenia jest mało specyficzny. Może on dotyczyć wielu układów chociaż najczęściej pokarmowego, oddechowego lub rozrodczego. Dlatego też kluczowe znaczenie mają badania laboratoryjne pozwalające jednoznacznie określić, czy wirus BVD-MD stanowi realny problem w danym stadzie? Interpretacja wyników badań nie zawsze jest łatwa i wymaga znajomości biologii wirusa i patogenyzy zakażenia.

Badania serologiczne – stada nieszczepione

Badania laboratoryjne można podzielić na serologiczne (wykrywające obecność przeciwciał, jako skutek przebytego zakażenia) i wirusologiczne (identyfikacja siewców wirusa). W przypadku wirusa BVD-MD nie ma dostępnych komercyjnie szczepionek markerowych i dedykowanych im testów serologicznych, które umożliwiłyby różnicowanie zwierząt szczepionych i zakażonych (DIVA). Dlatego, aby uzyskać wiarygodne wyniki badań serologicznych, należy badać jedynie zwierzęta ze stad nieszczepionych.

Specyfika uzyskiwanych wyników, określanie statusu stada

Warto w tym miejscu podkreślić, że obecność przeciwciał najczęściej nie oznacza stanu zakażenia wirusem, a jedynie potwierdza kontakt z wirusem w przeszłości. Zakażenie zwierząt tym wirusem w okresie postnatalnym prowadzi w większości przypadków do łagodnych zachorowań, często subklinicznych, kończących się całkowitym wyzdrowieniem zakażonych zwierząt w związku z produkcją przeciwciał neutralizujących wirus. Infekcja taka nigdy nie prowadzi do stanu zakażenia trwałego, a jedynie do zakażenia przejściowego z kilkudniowym okresem siewstwa wirusa. W praktyce osobniki w ostrej fazie zakażenia wirusem BVD-MD nie stanowią istotnego źródła zakażenia z powodu krótkotrwałego siewstwa i niskiego miana wydalane-



go wirusa. Wyjątkiem, który wymaga szczególnej uwagi, są buhaje po ostrym zakażeniu. W ich przypadku istnieje ryzyko wydłużonego okresu siewstwa wirusa z nasieniem (nawet do 6. miesięcy) pomimo braku wirerii.

Zakażenie postnatalne nie prowadzi do generacji siewców wirusa (osobników zakażonych trwale). Stan zakażenia trwałego rozwija się jedynie w okresie życia płodowego, gdy wirus przenika do płodu w okresie 30-120 dnia ciąży. Prowadzi to do stanu tzw. immunotolerancji (akceptacji wirusa przez układ immunologiczny płodu). Zakażony trwale osobnik wydała wirus przez całe życie i jest przy tym serologicznie ujemny (pozbawiony przeciwciał). Zakażenie trwałe dotyczy niskiego odsetka osobników (0,5-2%), stąd identyfikacja siewców wirusa wymaga zbadania całego stada. Ograniczanie kosztów badań laboratoryjnych możliwe jest poprzez badanie próbek mleka tankowego lub pulowanych próbek krwi, bądź wycinków skóry ucha. Badanie wirusologiczne próbek krwi w okresie odporności siarowej (najczęściej do 5-6 miesiąca życia) może dawać wyniki fałszywie

ujemne (osobnik zakażony diagnozowany jest jako osobnik zdrowy). Dlatego tak popularne są badania wycinków skóry ucha cieląt, gdyż obecność przeciwciał siarowych nie wpływa na wynik badania nawet bezpośrednio po wypiciu siary.

Interpretując wyniki badań serologicznych należy pamiętać, że obecność przeciwciał może być efektem kontaktu z wirusem kilka lat wstecz, co oznacza, że stado może już być wolne od siewców wirusa. Dlatego też, aby poznać w miarę aktualny status epizootyczny stada, zaleca się badanie zwierząt nieszczepionych w wieku 6-12 miesięcy. W tym okresie dochodzi już do zaniku przeciwciał siarowych, a dodatni wynik badania serologicznego będzie świadczył o niedawnym kontakcie zwierzęcia z patogenem. Drugim istotnym elementem zwiększonego ryzyka obecności wirusa w stadzie jest wysoki odsetek osobników serododatnich. Jeżeli przekracza on 60-70% badanych zwierząt z danej obory, to wskazuje z dużym prawdopodobieństwem, że w stadzie są aktualnie siewcy wirusa.

tab. 1. Liczba badań serologicznych w kierunku obecności przeciwciał dla wirusa BVD-MD, wyniki dodatnie i odsetek wyników dodatnich w latach 2006-2022.

rok	liczba badań serologicznych	wyniki dodatnie	odsetek wyników dodatnich (%)
2006	2029	686	34
2007	2256	833	37
2008	1981	594	30
2009	1592	350	22
2010	2262	491	22
2011	2582	438	17
2012	2254	557	25
2013	2184	612	28
2014	3049	1021	33
2015	2368	851	36
2016	1725	638	37
2017	1634	576	35
2018	3590	782	22
2019	642	156	24
2020	526	142	27
2021	463	122	26
2022	384	50	13



Serologiczne i wirusologiczne badania retrospektywne w latach 2006-2022

Ocena występowania zakażeń bydła wirusem BVD-MD w Polsce w oparciu o badania serologiczne i wirusologiczne próbek krwi opierała się na wynikach badań przeprowadzonych w Zakładzie Wirusologii w latach 2006-2022 (tabela 1). Analiza czasowa liczby wykonanych badań serologicznych wskazuje na stabilny trend w latach 2006-2017, kiedy rocznie badano od 1500 do 3000 próbek. Znaczący spadek ilości próbek badanych rocznie odnotowano w latach 2019-2022 (384-642). Natomiast odsetek osobników serologicznie dodatnich był w miarę stabilny i oscylował między 13 a 37% badanych zwierząt (ryc. 1).

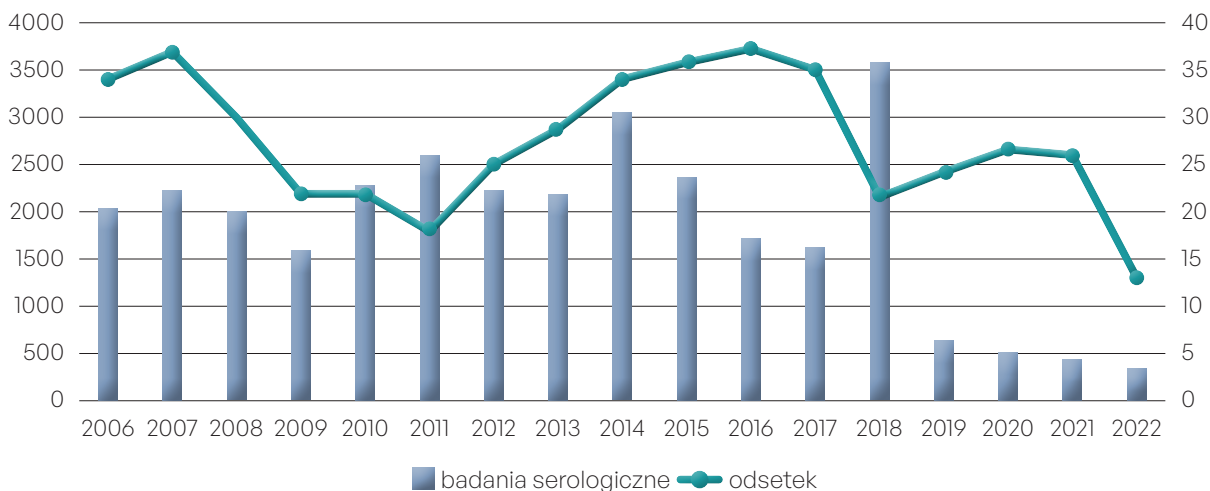
Odwrotna tendencja dotyczy badań wirusologicznych. W latach 2006-2017 wykonywano rocznie od 1200 do 1600 badań (poza latami 2011-2012), a średnio rocznie badano 1818 próbek. Natomiast w ostatnich 5 latach skala badań wzrosła do poziomu 2400-7500 próbek rocznie (średnio 4623 – tab. 2.). Oznacza to 150% wzrost średniej liczby badań wirusologicznych w latach 2018-2022 w stosunku do okresu poprzedniego (ryc. 2.). Takie przeciwstawne tendencje w liczbie wykonywanych badań serologicznych i wirusologicznych wskazują na zmianę preferencji hodowców i ograniczanie kosztów badań laboratoryjnych poprzez bezpośrednie wykrywanie siewców wirusa w stadzie w oparciu o badania wirusologiczne.

Serologiczne badania mleka tankowego z lat 2022-2023

Ocena występowania zakażeń bydła mlecznego wirusem BVD-MD w stadach objętych oceną użytkowości mlecznej na podstawie badań serologicznych próbek mleka tankowego ze wszystkich województw Polski objęła lata 2022-2023. Wcześniejsze badania własne mleka tankowego z lat 2012-2013 dotyczyły 231 próbek z 99 stad zlokalizowanych w ośmiu województwach. Wyniki dodatnie uzyskano dla 71% stad, z czego w 53% stad dodatnich wykryto wysokie poziomy przeciwciał wskazujące na ostre zakażenie i duże prawdopodobieństwo obecności siewców wirusa w tych stadach. W badaniach z ostatnich dwóch lat pobrano 1637 próbek mleka zbiorczego (tankowego), w tym 1284 próbki z gospodarstw, w których liczba krów w stadzie była mniejsza niż 50 sztuk oraz 353 próbki z gospodarstw o liczebności krów powyżej 50 sztuk. Wszystkie próbki mleka zbiorczego, zarówno w badaniach wcześniejszych jak i bieżących, pochodziły ze stad bydła nieszczepionych przeciwko BVD-MD.

Badanie wykonywano testem ELISA Total Ab (Idexx) zgodnie z zaleceniami producenta. Obliczano wartość S/P dla każdej badanej próbki (różnica między wartością gęstości optycznej badanej próbki i średniej wartości kontroli ujemnej testu dzielona przez różnicę między wartością średnią kontroli dodatniej testu i średnią wartością kontroli ujemnej testu). Wszystkie wartości gęstości optycznej mierzono przy dłu-

ryc. 1. Badania serologiczne i odsetek osobników dodatnich w latach 2006-2022.





gości fali 450 nm. Wartości S/P badanych próbek poniżej 0,20 oceniano jako ujemne, natomiast próbki dodatnie posiadały $S/P \geq 0,2$.

Wyniki dodatnie na obecność przeciwciał dla wirusa BVD-MD w próbkach mleka zbiorczego uzyskano we wszystkich badanych województwach w zakresie od 3,4% dla województwa podkarpackiego do 60,4% dla województwa mazowieckiego. Stada dodatnie stanowiły 35% zbadanych stad.

Stada do 50 szt. to 79% zbadanych stad i podobny wynik dotyczył stad dodatnich na obecność przeciwciał dla wirusa BVD-MD (77%). Wartość ta na poziomie poszczególnych województw wahała się od 60% do 100%. Problemy w rozrodzie (zacielenia, ronienia) oraz podwyższoną upadkowość cieląt notowano częściej w stadach serologicznie dodatnich, a dla 5. województw z największą liczbą zbadanych próbek wartości średnie oscylowały między 65 a 70%. Wyniki te są zbieżne z podobnymi badaniami stad bydła mlecznego w Polsce z 2020, w których odsetek stad dodatnich wyniósł 33%. Wskaźnik odsetka seroreagentów dodatnich w tych badaniach zależał od położenia geograficznego badanych stad, prowadzenia wypasu zwierząt z różnych obór na wspólnych pastwiskach oraz zakupu zwierząt z zewnątrz.

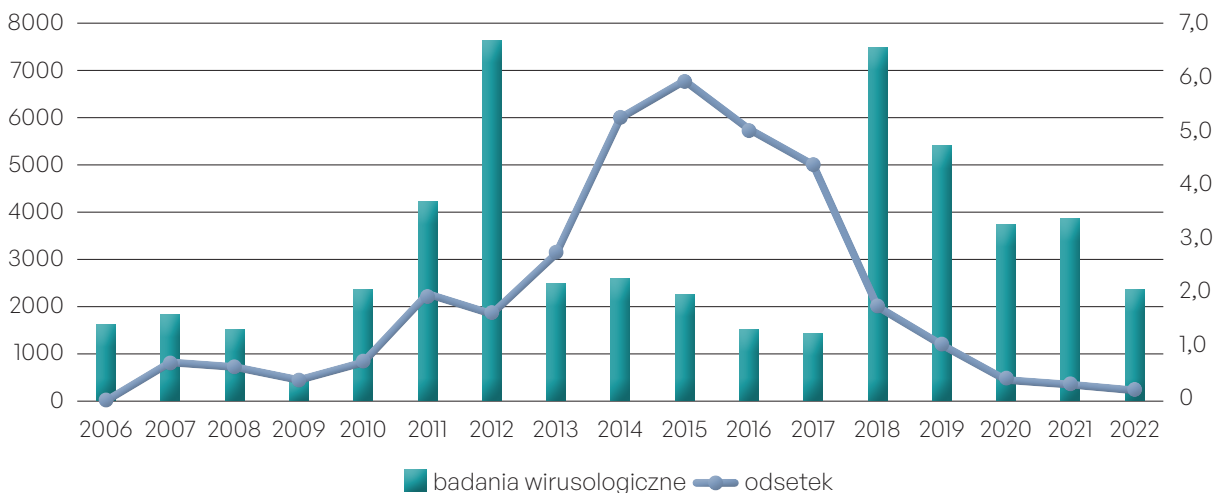
Podsumowanie

W badaniach własnych wykazano przydatność próbek mleka tankowego do badań wirusologicznych. Dla stad serologicznie dodatnich

tab. 2. Liczba badań wirusologicznych w kierunku obecności wirusa BVD-MD, wyniki dodatnie i odsetek wyników dodatnich w latach 2006-2022.


rok	badania wirusologiczne	wyniki dodatnie	odsetek
2006	1685	1	0,1
2007	1930	15	0,8
2008	1531	9	0,6
2009	357	1	0,3
2010	2393	18	0,8
2011	4237	83	2,0
2012	7606	117	1,5
2013	2539	69	2,7
2014	2574	137	5,3
2015	2306	136	5,9
2016	1484	75	5,1
2017	1378	61	4,4
2018	7576	136	1,8
2019	5389	56	1,0
2020	3824	16	0,4
2021	3932	14	0,4
2022	2394	6	0,3

ryc. 2. Badania wirusologiczne i odsetek osobników dodatnich w latach 2006-2022.





uzyskano wyniki dodatnie w badaniach wirusologicznych na obecność materiału genetycznego wirusa metodą PCR w czasie rzeczywistym. Miało to miejsce najczęściej w stadach serologicznie dodatnich.

Podsumowując, potwierdzono przydatność badania próbek mleka zbiorczego do określania statusu zdrowotnego stada w odniesieniu do zakażenia bydła wirusem BVD-MD. Stada serologicznie dodatnie stanowiły 35% zbadanych zwierząt. Wyniki dodatnie na obecność przeciwciał dla wirusa BVD-MD w stadach nieszczepionych wskazują na aktualną lub wcześniejszą obecność w stadzie siewców wirusa. Obecność zwierząt serododatnich w stadzie jest pożądana, gdyż są one czasowo, w sposób naturalny, zabezpieczone przed ponownym zakażeniem wirusem. Zazwyczaj nie są one źródłem wirusa dla pozostałych osobników w stadzie. Natomiast osobniki zakażone trwale najczęściej są serologicznie ujemne (pozbawione przeciwciał) i stanowią niewielki odsetek całego stada (0,5-2%). Zalecane jest szukanie siewców wirusa wśród osobników serologicznie ujemnych, najczęściej w populacjach cieląt i jałówek. Obserwowana w Polsce w ostatnich latach rosnąca liczba badań wirusologicznych przy dużym spadku liczby badań serologicznych odpowiada tendencjom światowym. Bezpośrednie poszukiwanie siewców wirusa ogranicza koszty badań laboratoryjnych i jednocześnie skraca czas ich identyfikacji i eliminacji ze stada. 

Piśmiennictwo:

- Baker, J.C. The Clinical Manifestations of Bovine Viral Diarrhea Infection. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pr.* 1995, 11, 425-445.
- Booth, R.E.; Brownlie, J. Comparison of bulk milk antibody and youngstock serology screens for determining herd status for Bovine Viral Diarrhoea Virus. *BMC Vet. Res.* 2016, 12, 1-16.
- Brodersen BW. Bovine viral diarrhoea virus infections: manifestations of infection and recent advances in understanding pathogenesis and control. *Vet Path.* (2014) 51:453-64.
- Brownlie J. The pathways for bovine virus Diarrhoea virus biotypes in the pathogenesis of disease. *Arch Virol.* (1991) 3:79-96.
- Diagn. Investig. 2017, 29, 833-843.
- Fourichon, C., Beaudeau, F., Bareille, N., Seegers, H., 2005. Quantification of economic losses consecutive to infection of a dairy herd with bovine viral diarrhoea virus. *Prev. Vet. Med.* 72, 177-181.
- Hanon, J.B.; de Baere, M.; de la Ferte, C.; Roelandt, S.; Guillot, G.; van der Stede, Y.; Cay, B. Serological monitoring on milk and serum samples in a BVD eradication program: A field study in Belgium showing antibody ELISA performances and epidemiological aspects. *Prev. Vet. Med.* 2018, 160, 136-144.
- Hanon, J.-B.; de Baere, M.; de la Ferte, C.; Roelandt, S.; van der Stede, Y.; Cay, B. Evaluation of 16 commercial antibody ELISAs for the detection of bovine viral diarrhoea virus-specific antibodies in serum and milk using well-characterized sample panels. *J. Vet.*
- Houe, H. Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals* 2003, 31, 137-143.
- Kuta A, Polak M.P, Larska M, Zmudzinski JF. Monitoring of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in Polish dairy herds using bulk tank milk samples. *Bull Vet Inst Pulawy.* (2013) 57:149-56.
- Moennig, V.; Becher, P. Control of bovine viral diarrhoea. *Pathogens.* 2018, 7, 29.
- McClurkin, A.W.; Littledike, E.T.; Cutlip, R.C.; Frank, G.H.; Coria, M.F.; Bolin, S.R. Production of cattle immunotolerant to 352 bovine viral diarrhoea virus. *Can J Comp Med.* 1984, 48, 156-61.
- Peterhans, E.; Schweizer, M. BVDV: A pestivirus inducing tolerance of the innate immune response. *Biologicals* 2013, 41, 39-51.
- Pinior, B.; Garcia, S.; Minviel, J.J.; Raboisson, D. Epidemiological factors and mitigation measures influencing production losses 337 in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection: A meta-analysis. *Transbound Emerg Dis.* 2019, 66, 2426-39, 338
- Pinior, B.; Firth, C.L.; Richter, V.; Lebl, K.; Trauffer, M.; Dzieciol, M.; Hutter, S.E.; Burgstaller, J.; Obritzhauser, W.; Winter, P.; 331 Käsbohrer, A. A systematic review of financial and economic assessments of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) prevention 332 and mitigation activities worldwide. *Prev Vet Med.* 2017, 137, 77-92.
- Presi, P., Struchen, R., Knight-Jones, T., Scholl, S., Heim, D., 2011. Bovine viral diarrhoea (BVD) eradication in Switzerland - experiences of the first two years. *Prev. Vet. Med.* 99, 112-121.
- Richter V.; Lebl, K.; Baumgartner, W.; Obritzhauser, W.; Käsbohrer, A.; Pinior, B. A systematic worldwide review of the direct 334 monetary losses in cattle due to bovine viral diarrhoea virus infection. *Vet J.* 2017. 220, 80-7, 335
- Rypuła, K.; Płoneczka-Janeczko, K.; Czopowicz, M.; Klimowicz-Bodys, M.D.; Shabunin, S.; Slegwalt, G. Occurrence of BVDV infection and the presence of potential risk factors in dairy cattle herds in Poland. *Animals.* 2020, 10, 230.
- Sandvik, T., 2005. Selection and use of laboratory diagnostic assays in BVD control programmes. *Prev. Vet. Med.* 72, 3-16.
- Valle, P.S.; Martin, S.W.; Skjerve, E. A Bayesian approach to estimating the performance of a bovine virus diarrhoea virus (BVDV) antibody ELISA bulk-tank milk test. *Prev. Vet. Med.* 2001, 50, 71-87.
- Van Duijn L, Veldhuis ABM, Mars M, De Roo B, Lam TJGM. Efficacy of a voluntary BVDV control programme: experiences from the Netherlands. *Vet J.* (2019) 245:55-60.
- Wernike K, Gethmann J, Schirrmeyer H, Schröder R, Conraths FJ, Beer M. Six years (2011-2016) of mandatory nationwide bovine viral diarrhoea control in Germany-a success story. *Pathogens.* (2017) 6:50.
- Wernike, K.; Beer, M. Diagnostics in the context of an eradication program: Results of the German bovine viral diarrhoea proficiency trial. *Vet. Microbiol.* 2019, 239, 108452.

reklama



Zdjęcie dla zwrócenia uwagi



Nowo powstałe
weterynaryjne
laboratoryjne
diagnostyczne
w Otyniu
oferuje:

- badania anatomopatologiczne
- bakteriologiczne z określeniem lekowrażliwości
- parazytologiczne
- mykologiczne
- serologiczne
- diagnostyka molekularna
- opracowanie szczepionek autogenicznych

Ponadto:

- praktyczną pomoc w procesie doboru odpowiednich próbek do diagnostyki
- doradztwo w obszarze przygotowania i stosowania szczepionek autogenicznych
- konsultacje indywidualne w zakresie interpretacji uzyskanych wyników badań

Zespół mikrobiologów,
biotechnologów, lekarzy
weterynarii i zootechników
zaprasza do kontaktu

ul. Jana Pawła II 15
67-106 Otyń
biuro 535 724 355
pracownie 535 724 303

kontakt@invac.eu
www.invac.eu



Występowanie koronawirusa bydła w populacji bydła w Polsce

Jerzy Rola, Wojciech Socha

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Przedstawione wyniki badań wskazują, że zakażenia BCoV występują w populacji bydła w Polsce stosunkowo często i z reguły mają postać koinfekcji z innymi patogenami układu oddechowego bydła.

Koronawirus bydlęcy (Bovine coronavirus, BCoV) należy do rodziny *Coronaviridae*, rodzaju *Betacoronavirus*. Wirus ten wywołuje u bydła 3 różne zespoły chorobowe: zakażenia układu oddechowego, biegunkę cieląt i zimową dyzenterię.

Zakażenia układu oddechowego

Wyniki badań serologicznych wskazują, że koronawirus bydlęcy w populacji bydła występuje powszechnie na całym świecie. Na zakażenie BCoV wrażliwe jest bydło w każdym wieku. U zwierząt dorosłych dochodzi najczęściej do zakażenia układu oddechowego, które przebiega w postaci łagodnej z objawami kaszlu i zapalenia nosa. U cieląt w wieku od 2. do 6. miesięcy wirus może powodować zapalenie płuc. Interesujące wyniki badań przedstawił badacz z Włoch, którzy szczegółową obserwacją objęli 4 stada bydła, w których stwierdzili zakażenia układu oddechowego wywołane wyłącznie przez BCoV. W 3. z 4. badanych stad obserwowali objawy kliniczne w postaci duszności, gorączki i niewydolności oddechowej jedynie u 2-3-miesięcznych cieląt, u których obecność wirusa wykryli w próbkach wymazów z nosa metodą qRT-PCR. W jednym

z 4. stad bydła objawy chorobowe występowały u cieląt, jałówek i krów, zarówno ze strony układu oddechowego jak i układu pokarmowego, a BCoV był obecny w wymazach z nosa i w próbkach kału. W latach 80. ubiegłego wieku stwierdzono, że BCoV bierze także udział w rozwoju zespołu oddechowego (BRDC) u młodego bydła. Wykazano, że zwierzęta z BRDC wydalają wirusa przez układ oddechowy i pokarmowy, a szczyt siewstwa przypadał na okres bezpośrednio po przywiezieniu zwierząt do miejsca tuczu. W płucach zwierząt, które padły z powodu BRDC, stwierdzano obecność BCoV. Ponadto u dużego odsetka zwierząt w fermach wielkoprzemysłowych dochodziło do serokonwersji przeciwko BCoV w ciągu pierwszych 3-4 tygodni od przybycia. Zaobserwowano także, że osobniki posiadające wysokie miano przeciwciał przeciwko koronawirusowi w momencie wprowadzania do miejsca tuczu rzadziej chorowały na BRDC.

Biegunka cieląt

Koronawirus bydlęcy powoduje zapalenie jelit u cieląt najczęściej w okresie pierwszych 3. miesięcy życia. Według danych Kansas State University, jeden 1 na trzy przypadki biegunki u



cieląt w wieku 1-9 tyg. powodowanych jest przez BCoV. W zakażonym stadzie biegunka może wystąpić u 15-70% cieląt. U cieląt doświadczalnie zakażonych BCoV siewstwo wirusa utrzymywało się do 14. dnia po zakażeniu, przy czym największe jego ilości były wydalane w ciągu pierwszych 48 godz. Ponadto ustalono, że ryzyko rozwoju biegunki u cieląt urodzonych przez krowy będące nosicielami wirusa jest znacznie wyższe, gdyż może dochodzić do ich zakażenia podczas porodu krowy. Warto odnotować, że BCoV był wykrywany w kale zarówno cieląt z biegunką jak i cieląt zdrowych.

Zimowa dyzenteria

Pierwsze doniesienie opisujące zimową dyzenterię u bydła opublikowano w USA w 1915 r., a w następnych latach choroba ta została wykryta w kolejnych krajach świata. Zachorowania wśród zwierząt występują głównie w miesiącach zimowych (listopad-kwiecień), gdy bydło utrzymywane jest w zamknięciu w oborach. Najczęściej chorują młode 3-6 letnie krowy mleczne, u których biegunka pojawia się wkrótce po porodzie. Stosunkowo rzadko obserwowano zachorowania u dorosłego bydła mięsnego i u młodego (6-9 miesięcy) intensywnie tuczonego. Chorobę charakteryzuje wysoki współczynnik zachorowalności (50-100%) i niski śmiertelności (1-2%). Na rozwój choroby wpływ mają różne czynniki, zarówno ze strony gospodarza (wiek, status reprodukcyjny, ostatnio przebyty poród) jak i środowiska (nagły spadek temperatury, utrzymywanie zwierząt w zamknięciu, słaba wentylacja, używanie sprzętu zanieczyszczonego odchodami zwierząt do podawania paszy).

Występowanie BCoV w Polsce

W Polsce badania dotyczące BCoV prowadzone były w nielicznych ośrodkach naukowych. Socha i wsp. z PIWet-PIB w Puławach wykonali badania u 296 zwierząt z 51 stad zlokalizowanych w województwach wielkopolskim, podlaskim, pomorskim, opolskim i mazowieckim. Próbkę krwi oraz wymazy z nosa pobrano od zwierząt w latach 2014-2015. Dane dotyczące wieku były dostępne dla 261 zwierząt: 89 osobników było młodszych niż 3 miesiące, 126 było starszych niż 3 miesiące,

reklama

TOXCONTROL ADVANCE

MIKROBIOLOGICZNIE AKTYWNY SORBENT TOKSYN

Neutralizuje toksyny występujące w Polsce

- Wysoka skuteczność wiązania i biodegradacji toksyn
- Szerokie spektrum działania - aktywny w stosunku do toksyn wytwarzanych przez patogeny, grzyby i pleśnie
- Zawiera mikrokapsułkowane mikroorganizmy o działaniu detoksykującym o dużej zdolności do biodegradacji toksyn
- Stymuluje regenerację wątroby
- Bezpieczny i stabilny w wysokich temperaturach



Sukces przez innowacje

JHJ Sp. z o.o.

Nowa Wieś 11 | 63-308 Gizatki

Tel. (+48) 62 741 92 94 | Fax (+48) 62 741 93 28


jhj@jhj.pl | www.jhj.pl



ale młodszych niż 6 miesięcy, a 51 było starszych niż 6 miesięcy. Dane dotyczące wielkości stad były dostępne dla 245 zwierząt: 62 pochodziło z małych stad (≤ 77 zwierząt), 158 ze średnich stad (80–590) i 25 z dużych stad (≥ 750). Ponadto znany był stan zdrowia 171 zwierząt, z których 86 wykazywało objawy chorób układu oddechowego. Wszystkie próbki pobrano od zwierząt, które nie były szczepione przeciwko BoHV-1 lub BVDV. Przeciwciała specyficzne dla BCoV stwierdzono u 215 (72,6%) badanych zwierząt, natomiast dla BVDV i BoHV-1 odpowiednio u 144 (50,3%) i 117 (39,5%). Spośród 51 przebadanych stad bydła zwierzęta BCoV seropozytywne stwierdzono w 42 (82,4%) stadach, a w przypadku BoHV-1 i BVDV w 19 (37,3%) i 30 (58,8%) stadach. Zidentyfikowano zwierzęta seropozytywne względem więcej niż jednego czynnika wirusowego, w tym 113 (39,4%) sztuk bydła BCoV/BVDV-dodatniego, 99 (33,5%) BCoV/BoHV-1-dodatniego i 87 (30,3%) bydła BVDV/BoHV-1-dodatniego. Dodatkowo u 72 (25,1%) zwierząt stwierdzono przeciwciała przeciwko wszystkim trzem badanym czynnikom wirusowym (BCoV/BVDV/BoHV-1). Bydło BCoV seropozytywne stwierdzano częściej w młodszych grupach wiekowych (cielęta w wieku ≤ 3 miesięcy i 3–6 miesięcy) oraz w podgrupie krów, które wykazywały objawy kliniczne ze strony układu oddechowego. Seroprewalencja BCoV była również wyższa w stadach powyżej 80 sztuk i różniła się istotnie pomiędzy województwami: najwyższy odsetek zwierząt seropozytywnych stwierdzono w woj. podlaskim (84,4%) a najniższy w woj. wielkopolskim (60%).

Materiał genetyczny BCoV stwierdzono u 31 (10,5%) badanych zwierząt, natomiast BVDV-1 u 8 (2,7%), a BoHV-1 u 3 (1%) zwierząt. Nie zidentyfikowano próbek dodatnich dla BVDV-2. Obecność materiału genetycznego BCoV wykrywano częściej u młodszych cieląt i zwierząt z klinicznymi objawami chorób układu oddechowego. Wirusa stwierdzano częściej w wymazach z nosa zwierząt pochodzących z większych stad i, podobnie jak w badaniach serologicznych, częstość wykrywania BCoV różniła się między województwami, największą liczbę wymazów dodatnich stwierdzono w woj. wielkopolskim (12 z 55 pobranych wymazów) a najmniejszą w woj. pomorskim (2 z 60 pobranych wymazów). Wszystkie

zidentyfikowane szczepy BCoV wykazywały wysokie podobieństwo sekwencji nukleotydowej w analizowanym fragmencie genu S (98,3–100%) i tworzyły wspólny klaster razem z najnowszymi europejskimi szczepami BCoV, w tym polskimi szczepami wyizolowanymi w 2020 r.

Lachowicz-Wolak i wsp. z UP we Wrocławiu przebadali testem PCR próbki pobrane od zwierząt z objawami klinicznymi zespołu oddechowego bydła (BRD). Użyty przez autorów komercyjny zestaw PCR wykrywał materiał genetyczny 7. głównych czynników zakaźnych (*P. multocida*, *M. haemolytica*, *H. somni*, *M. bovis*, BRSV, BCoV i BPIV-3) odpowiedzialnych za wywoływanie BRD u bydła. Próbki wymazów z nosa i wypłuczyny z tchawicy pobrano w latach 2019–2021 od 296 cieląt z 74 stad bydła mlecznego zlokalizowanych w południowo-zachodniej części Polski. Obecność co najmniej jednego z wymienionych wcześniej patogenów stwierdzono w 71 (95,9%) stadach, przy czym dominowały zakażenia bakteryjne, które potwierdzono w 42 (65,7%) stadach. Patogenami najczęściej stwierdzanymi była *P. multocida* (87, 8%) i *M. haemolytica* (44,5%). Spośród czynników wirusowych najwyższą prewalencję odnotowano dla BCoV (32,4%), następnie BPIV-3 (13,5%) i BRSV (10,8%). Zakażenia wywołane dwoma różnymi patogenami autorzy stwierdzili w 22/74 stadach, trzema w 17/74 stadach, czterema w 10/74 stadach, pięcioma patogenami w 5/74 stadach i siedmioma patogenami w 1/74 stadzie. Warto dodać, że w 3. stadach nie stwierdzono obecności żadnego z badanych patogenów. 

Piśmiennictwo:

1. Boileau M.J., Kapil S.: Bovine Coronavirus Associated Syndromes. *Vet. Clin. Food Anim.* 2010, 26, 123–146.
2. Decaro N., Campolo M., Desario C., Cirone F., D'Abramo M., Lorusso E., Greco G., Mari V., Colaianni M.L., Elia G., Martella V., Buonavoglia C.: Respiratory disease associated with bovine coronavirus infection in cattle herds in Southern Italy. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2008, 20, 28–32.
3. Jeong J.H., Kim G.Y., Yoon S.S., Park S.J., Kim Y.J., Sung C.M., Shin S.S., Lee B.J., Kang M.I., Kang M.I., Park N.Y., Koh H.B., Cho K.O.: Molecular analysis of S gene of spike glycoprotein of winter dysentery bovine coronavirus circulated in Korea during 2002–2003. *Virus Res.* 2005, 108, 207–212.
4. Lachowicz-Wolak A., Klimowicz-Bodys M., D., Płoneczka-Janeczko K., Bykowsy M., Siedlecka M., Cinciała J., Rypuła K. The Prevalence, Coexistence, and Correlations between Seven Pathogens Detected by a PCR Method from South-Western Poland Dairy Cattle Suffering from Bovine Respiratory Disease. *Microorganisms* 2022, DOI: 10.3390/microorganisms10081487.
5. Socha W., Larska M., Rola J., Bednarek D.: Occurrence of bovine coronavirus and other major respiratory viruses in cattle in Poland. *J. Vet. Res.* 2022, 66, doi: 10.2478/jvetres-2022-0059.
6. Saif L.J.: Bovine Respiratory Coronavirus. *Vet. Clin. North Am. Food Anim Pract.* 2010, 26, 349–364.



Głowica bydła

powracające zagrożenie dawnym patogenem

Magdalena Larska

Zakład Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego
w Puławach

Czy głowica dotyczy jedynie przeżuwaczy egzotycznych lub bydła w krajach dla nas egzotycznych? Niestety nie. Choroba należy do zagrożeń powracających, których ryzyko w Europie rośnie

Głowica bydła, obecnie częściej nazywana złośliwą gorączką bydła (z ang. malignant catarrhal fever – MCF, łac. *coryza gangraenosa bovim*, *rhinitis gangraenosa bovim*), jest sporadyczną, wysoce śmiertelną, układową chorobą zakaźną, która dotyka bydło, a rzadziej inne przeżuwacze i świnię. Występuje na całym świecie i ma duże znaczenie gospodarcze. Nazwa głowica odpowiada najczęściej stwierdzanej postaci głowowo-ocznej choroby w Europie. Wczesna historia choroby związana jest jednak z Afryką (1). Już w czasach prehistorycznych we wschodniej Afryce pasterze wiązali występowanie głowicy u bydła z okresem okołoporodowym u gnu przypadającym na początek sezonu deszczowego. Głowica bydła związana z owcami opisywana była pod koniec XVIII wieku w Europie. W latach 20. XX w. po raz pierwszy wykazano eksperymentalnie transmisję czynnika wywołującego głowicę poprzez krew owiec w Europie i krew gnu pręgowanego (*Connochaetes taurinus*) w południowej Afryce. W 1959 r. wyizolowano pierwszego przedstawiciela, jak się potem okazało całej grupy wirusów wywołujących głowicę, herpeswirusa antylopiego typu 1 (Alcelaphine herpesvirus 1, AIHV-1). Dopiero w 1994 wykryto herpeswirusa owczego typu 2 (ovine herpesvirus 2 – OvHV-2), który odpowiedzialny był za głowicę bydła w Indonezji. W Polsce głowica obserwowana była przez lekarzy terenowych w latach 60. i 70. XX w. stosun-

kowo często jako sporadycznie występująca, kiedy to częściej w gospodarstwach trzymano różne gatunki zwierząt razem, pomimo że brak jest opisów takich przypadków w literaturze (2). Jedyne raporty z kraju dotyczące występowania zakażeń wirusem głowicy dotyczyły badań owiec w dwóch Rolniczych Gospodarstwach Doświadczalnych Uniwersytetu Akademii Rolniczej w Poznaniu, gdzie OvHV-2 wykryto w wymazach z nosa i pochwy od trzech maciorek (3). Trudno jest ocenić skalę występowania przypadków głowicy u bydła w Polsce, ponieważ choroba nie jest zwalczana z urzędu.

W Europie przypadki są opisywane sporadycznie, podczas gdy w krajach Afryki subsaharyjskiej i Azji masowe upadki bydła prowadzą często do ogromnych strat. W południowej Afryce, w zależności od bliskości wolno żyjących gnu, do zakażeń u bydła dochodzić może nawet u ponad 30% stada, a śmiertelność sięga 100%. Ponieważ gatunkami szczególnie wrażliwymi na zakażenie wirusem głowicy są wołowate, tj. bizony, żubry, czy bantengi, najczęściej zakażenie OvHV-2 ma przebieg gwałtowny (upadki w ciągu 24-48h) i charakteryzuje się wysoką śmiertelnością. Dla przykładu, w 2014 r. opisano głowicę u bizonów w stadzie w Idaho, USA, gdzie doszło do upadku 825 sztuk (51%) w okresie 140 dni po wprowadzeniu owiec na przyległe bizonom pastwiska (5). W 2017 r. w Tierpark Lange Erlen w Basel, w Szwajcarii padło całe stado żubrów po



wprowadzeniu do ogrodu owiec (dane nieopublikowane). Na całym świecie najwięcej raportów z licznych przypadków padnięć z powodu głowicy dotyczy ogrodów zoologicznych, gdzie dochodzi do kontaktu bezpośredniego lub pośredniego między różnymi gatunkami przeżuwaczy, które w warunkach naturalnych często nigdy by się ze sobą nie spotkały. Co charakterystyczne, śmiertelność z powodu głowicy w ZOO dotyczy jednocześnie często różnych gatunków przeżuwaczy, co może sugerować inne, niezakaźne przyczyny, np. zatrucie. W ZOO w Rzymie w latach 2011-2012 upadki z powodu głowicy OvHV-2 dotyczyły różnych gatunków wołowatych (bantengów, tarów himalajskich, kobów nilowych) i jeleni sika (6). W San Diego, USA na przestrzeni lat 2006-2008 stwierdzono kilkanaście przypadków śmiertelnych u antylop (dujkerów, bongo), gazeli i kóz. Ogrody zoologiczne, gdzie w jednym miejscu zgromadzonych jest wiele gatunków zwierząt, najczęściej egzotycznych, ułatwiają transmisję międzygatunkową wirusów głowicy (7). Dodatkowo, w ogrodach zoologicznych stwierdzano przypadki upadków przeżuwaczy po zakażeniu innymi wirusami głowicy niż owczy OvHV-2. W Kalifornii w 2017 r. padło kilka dujkerów różnych gatunków po zakażeniu wirusem od ibeksów; w Teksasie w 2012 r. zanotowano upadki mazam rudych po zakażeniu wirusem od kóz pigmejских; a we Włoszech zanotowano śmiertelne zakażenie pudu po transmisji herpeswirusa koziego typu 2 (CpHV-2) od kóz, które znajdowały się w tym samym obiekcie, jednak nie miały ze sobą bezpośredniego kontaktu.

Jednak czy głowica dotyczy jedynie przeżuwaczy egzotycznych lub bydła w krajach dla nas egzotycznych? Niestety nie. Choroba należy do zagrożeń powracających (z ang. re-emerging), których ryzyko w Europie rośnie ze względu na: rosnącą liczbę owiec w niektórych regionach, pojawianie się w środowisku naturalnym gatunków inwazyjnych lub obcych, jak muflon, jeleni sika i daniel, intensyfikację przemieszczania się zwierząt i ludzi, zmiany klimatyczne.

Etiologia

Czynnikiem etiologicznym choroby są wirusy należące do rodziny Herpesviridae, podrodziny Gammaherpesvirinae, rodzaju *Macavirus*. Do

tego rodzaju należy kilka gammaherpeswirusów odpowiedzialnych za wywoływanie MCF, z których główne to OvHV-2 odpowiedzialny za tzw. głowicę związaną z owcami: SA-MCF (sheep associated MCF) i AIHV-1 endemiczny u antylop gnu, wywołujący u gatunków wrażliwych głowicę bydła związaną z antylopami: WA-MCF (Wildbeest-associated MCF). Inne wirusy znane jako patogenne to kozi CpHV-1, wirus głowicy jeleni wirginijskich (MCFV-WTD), koziorożców (MCFV-ibex) i antylop krowich (AIHV-2) (8). Wyizolowano jeszcze kilka innych gammaherpeswirusów od nieudomowionych przeżuwaczy. Do tego samego rodzaju gammaherpeswirusów należy również mało poznany herpeswirus bydłocy typu 6 (BoHV-6). Inny, pokrewny, należący do rodzaju *Rhadinovirus* BoHV-4 wywołuje najczęściej zakażenia podkliniczne, ale również choroby układu rozrodczego, w tym zapalenie macicy, zapalenie sromu i zapalenie wymienia.

Transmisja: rezerwuar – gatunki wrażliwe

Źródłem zakażenia wirusami głowicy są gatunki rezerwuarowe, u których zakażenie przebiega bezobjawowo i które, w związku z latencją herpeswirusa w układzie immunologicznym, zakażone są całe życie, siejąc go do środowiska w okresach obniżonej odporności. Mechanizm ten jest podobny do zakażeń latentnych innych herpeswirusów, takich jak lepiej poznane: herpeswirus bydłocy typu 1 (BoHV-1) czy wirus opryszczki pospolitej u ludzi (HHV). Wirusy głowicy u bezobjawowych nosicieli są szeroko rozpowszechnione na całym świecie, jednak chorobę wywołują tylko u gatunków wrażliwych, do których należą: bydło, bawoły wodne, bizona amerykańskie (*Bison bison*), żubry (*Bison bonasus*), bydło balijskie (bantengi), jeleniowate, gzele, żyrafy i świny domowe (ryc. 1).

Najniebezpieczniejszy w Europie jest OvHV-2, którego głównym rezerwuarem są owce, ale również kozy i muflony zarówno hodowane, jak i wolno żyjące.

Do zakażenia owiec i kóz dochodzi już w okresie okołoporodowym, chociaż w niektórych sytuacjach następuje to dopiero po 3. miesiącu życia, kiedy przestają je chronić przeciwciała matczyne. I to nowonarodzone jagnięta/koźlęta, a w mniejszym stopniu ich matki, są głównym



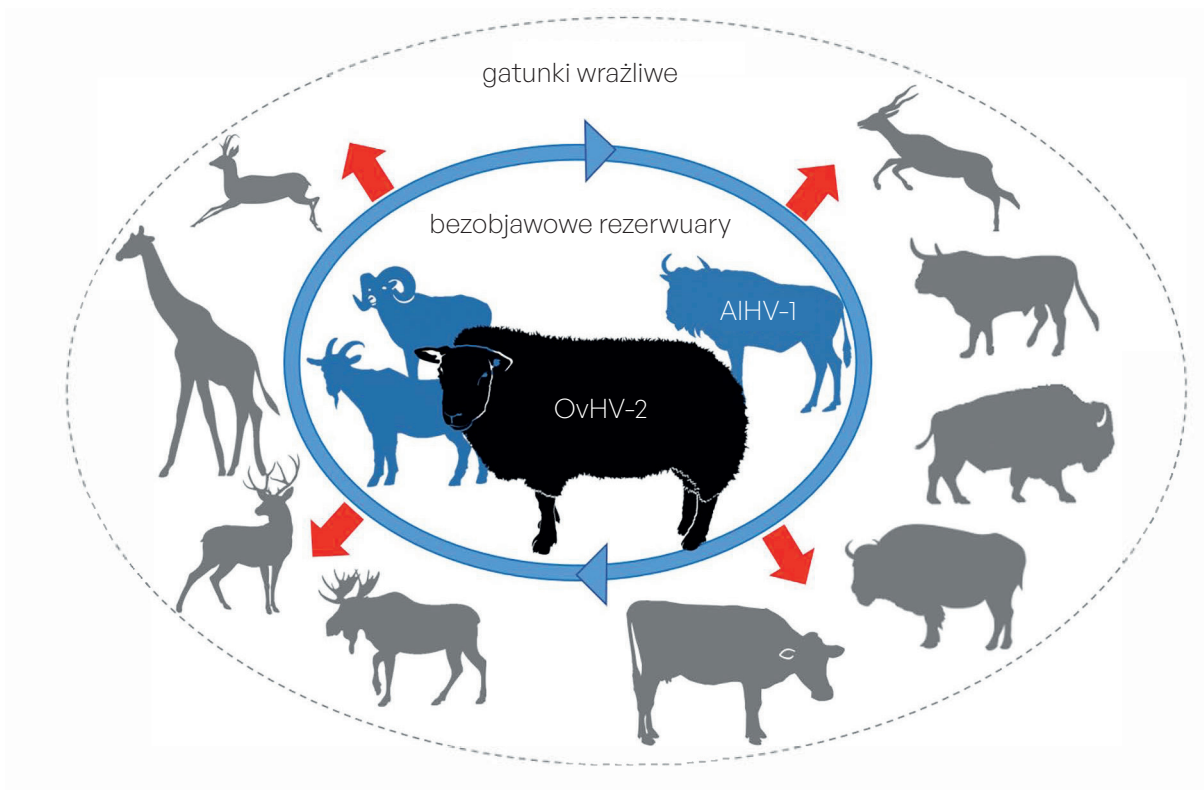
źródłem zakażenia dla zwierząt gatunków wrażliwych. Potocznie uważa się, że do siewstwa wirusa głowicy u dorosłych zwierząt latentnie zakażonych dochodzi rzadziej, np. w warunkach stresu czy po leczeniu kortykosteroidami, ale w badaniach własnych wykrywaliśmy również OvHV-2 w wymazach z nosa od zdrowych, dorosłych owiec i kóz. Wirus w organizmie latentnie zakażonego zwierzęcia występuje w formie związanej z limfocytami T. U nowonarodzonych jagniąt wirus występuje jeszcze kilka tygodni w formie niezwiązanej, a u owiec dorosłych w określonych warunkach może dojść do uwolnienia wirusa związanego latentnie z limfocytami T i przejściowego siewstwa trwającego nawet krócej niż jedną dobę. OvHV-2 przenosi się głównie drogą oddechową, prawdopodobnie drogą kropelkową rozsiewany w wydzielinach z nosa i oczu. Do zakażeń gatunków wrażliwych dochodzi najczęściej po bliskim kontakcie z owcami, ale odnotowano przypadki, gdy owce i zakażone bydło dzieliło 70 metrów, a w stadach bizonów do 5 km od zagrody dla jagniąt. W stadzie bizonów w Kandzie doszło do zakażenia OvHV-2 bizonów na przyległym do zagro-

dy owiec pastwisku, a następnie wirus zakażał następnie bizony nawet w zagrodzie znajdującej się ponad 5 km od owiec. Możliwość transmisji OvHV-2 przez gatunki wrażliwe jest niewielka, dlatego opisy niektórych przypadków sugerują również przenoszenie się wirusa przez zanieczyszczone nim środowisko czy nawet z prądem powietrza.

Objawy kliniczne

Inkubacja zakażeń wirusami głowicy zależy od gatunku wirusa i zwierzęcia, ale wynosi od kilku dni nawet do kilku miesięcy. OvHV-2 u bydła domowego powoduje najczęściej pojedyncze przypadki zachorowań, chociaż obserwowano też i większe epizootie z blisko 50-procentową śmiertelnością w stadzie. Śmiertelność u bydła i bawołów zakażonych AIHV-1 jest bardzo wysoka, powodując ogromne straty w ich hodowli. Wyróżnia się kilka postaci choroby (8-11). W postaci nadostrej przebieg jest szczególnie szybki, gdyż do śmierci dochodzi najczęściej w ciągu 12-24 godzin. Czasem może być poprzedzona gorączką i biegunką. Kolejną postacią najczęściej

ryc. 1. Znaczenie różnych gatunków przeżuwaczy w transmisji wirusów głowicy.





spotykaną u bydła jest postać głowowo-oczna. Oprócz niespecyficznego objawów, takich jak wysoka gorączka (40–42°C), depresja, wychudzenie i spadek produkcji mleka, w jej przebiegu obserwuje się obfite zmiany w obrębie gałki ocznej: wypływ z worka spojówkowego, obustronne zmętnienie rogówki, zapalenie błony naczyniowej, owrzodzenia rogówki, prowadzące do ślepoty oraz obfity wypływ z nosa. Zmiany są bolesne i zwierzę wyraźnie cierpi. Wydzielina z oczu i nosa jest początkowo surowicza, ale później staje się obfita i śluzowo-ropna, prowadząc do zaskorupienia się śluzawicy w okolicy oczu, a występująca duszność powoduje oddychanie przez pysk. Błona śluzowa jamy ustnej jest na początku przekrwiona, a następnie pojawiają się martwica i nadżerki, co dodatkowo powoduje nadmierne ślinienie się. Powierzchnowe węzły chłonne są często wyraźnie powiększone, stawy mogą być obrzęknięte, możliwe są też objawy neurologiczne, zwłaszcza w końcowych stadiach. W postaci jelitowej charakterystyczna jest intensywna biegunka, a zmiany oczne są mniej zaznaczone. Opisano również postać przewlekłą, która przebiega z przemijającą gorączką i niewielkimi nadżerkami błony śluzowej jamy gębowej i nosa, która może trwać kilka tygodni, ale po kolejnym nawrocie choroby najczęściej kończy się śmiercią zwierzęcia. Czasami u bydła występują zmiany skórne, takie jak rumień, owrzodzenia i stwardniałe strupy, które występują szczególnie często na wymieniu, strzykach i w szparze międzyracicowej, czasami martwica i nadżerki skóry są rozsiane na skórze innych części ciała.

Do najczęstszych zmian pośmiertnych należą zmiany wrzodzące w błonie śluzowej jamy ustnej i górnych dróg oddechowych. W postaci głowowo-ocznej wyraźne owrzodzenie śluzawicy i różnego stopnia zmętnienie rogówki, czasem jej nadżerki. Zmiany te zwykle rozciągają się wzdłuż przewodu pokarmowego w postaci podłużnych nadżerek w przetyku, rumienia i wybroczyn w trawieńcu, nieżyłowego zapalenia jelit oraz obrzęku i owrzodzenia kępek Peyera. Podobne zmiany mogą występować w tchawicy i oskrzelach. Czasami dochodzi do obrzęku wątroby i krwotocznego zapalenia pęcherza moczowego. W ośrodkowym układzie nerwowym i oponach mózgowych mogą być obecne wybroczyny

i przekrwienie. Główne zmiany histologiczne polegają na nagromadzeniu limfocytów w wielu tkankach, co może być związane z rozległym zapaleniem naczyń i zmianami martwiczymi.

Diagnostyka

Kierunek badań sugerują przede wszystkim specyficzne objawy kliniczne, jednak przy nagłej śmierci zwierzęcia może nie dojść do ich rozwoju. W badaniach przyżyciowych, w obrazie hematologicznym krwi obserwowana jest umiarkowana do ciężkiej leukopenia, często z limfopenią i neutrofilią (choć opisywano również neutropenię). Kolejną wskazówką może być wprowadzenie lub obecność małych przeżuwaczy, szczególnie owiec w bliskiej okolicy. Należy pamiętać, że transmisji OvHV-2 sprzyja okres wykotów u owiec.

Do wykrywania zakażeń używa się przede wszystkim testów identyfikujących materiał genetyczny wirusa (reakcja łańcuchowa polimerazy – PCR) (11). U zwierząt zakażonych latentnie wirusa można wykryć we krwi pełnej obwodowej, pobranej najlepiej do próbki z wersenianem dwusodowym – EDTA lub w wyizolowanym z niej kożuszku leukocytarnym. Siewstwo wirusa można potwierdzić PCR w wymazie z nosa pobranym do wymazówki suchej lub z transportowym podłożem wirusologicznym (Virocult). U zwierząt padłych, obecność wirusa wykrywać można w większości narządów mięsnych i ze zmian patologicznych. Zakład Wirusologii PIWet prowadzi badania oparte o wykrywanie fragmentu genu polimerazy wirusa poprzez nested PCR (13). Stosowana metoda pozwala na wykrycie szerokiego wachlarza gammaherpeswirusów, a następnie poprzez sekwencjonowanie fragmentu genomu wirusa o długości 227 par zasad, ich dalszą charakterystykę. To umożliwia jednoczesne wskazanie źródła zakażenia i prowadzenie dalszego postępowania. Przeprowadzenie testu izolacji w hodowli komórkowej nie jest możliwe dla wielu szczepów głowicy. Dotąd udało się wyizolować i namnażać w hodowli komórkowej jedynie AIHV-1. W związku z tym test neutralizacji wirusa (oparty jest na namnażaniu się wirusa *in vitro*), który jest uznawany za złoty standard w diagnostyce serologicznej, nie może być przeprowadzony z użyciem OvHV-2.




Do badań serologicznych przesiewowych można stosować testy ELISA, ale sprawdzą się one głównie u gatunków rezerwuarnych, tj. owiec i kóz. Dodatkowo dostępność do takich testów komercyjnych jest ograniczona. Należy również wziąć pod uwagę fakt, że do serokonwersji u zwierząt chorych na głowicę (szczególnie ostrą) najczęściej nie dochodzi, gdyż wcześniej padają. W badaniach własnych zauważyliśmy dużo wątpliwych lub fałszywie dodatnich wyników dla surowic od bydła i żubrów badanych przy użyciu dostępnych komercyjnie testów ELISA, co prawdopodobnie może mieć związek z reakcjami krzyżowymi przeciwciał z innymi gammaherpeswirusami. Takich danych brakuje, jednak zaobserwowano, że AIHV-1 wykazuje podobieństwo antygenowe do BoHV-4 (14). Niektóre doniesienia wskazują na możliwość skutecznej ochrony przeciw MCF u bydła szczepionej przeciw BoHV-4 (15).

Diagnostyka różnicowa

Choroby, które należy wykluczyć w rozpoznaniu MCF, to: wirusowa biegunka bydła/choroba błon śluzowych (BVD-MD), zakaźne zapalenie nosa i tchawicy bydła (IBR/IPV), choroba układu oddechowego bydła (BRD), choroba niebieskiego języka (BTV), pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej (VS), niesztowica oraz pryszczycza. W przypadku objawów nerwowych należy wziąć pod uwagę inne przyczyny zapalenia mózgu, takie jak wścieklizna i gąbczasta encefalopatia bydła. W Afryce głowicę różnicuje się z księgosuszem. Do czynników niezakaźnych należą zatrucia arsenem i chloraftalenami.

Leczenie, zapobieganie i kontrola

Leczenie jest objawowe, oparte na niesteroidowych lekach przeciwzapalnych, które zmniejszają cierpienie. Jednak w większości przypadków eutanazja zwierząt chorych jest najlepszym rozwiązaniem ze względu na ich dobrostan, szczególnie, że 95-100% zakażeń objawowych kończy się śmiercią zwierzęcia. Wirus głowicy nie jest stabilny w środowisku i większość powszechnie stosowanych środków dezynfekcyjnych będzie skuteczna. Wirus głowicy ulega szybkiej inaktywacji pod wpływem światła słonecznego.

Związany z komórkami może przeżyć 72 godziny poza gospodarzem, podczas gdy wirus pozakomórkowy jest szybko inaktywowany w suchym środowisku, choć może przetrwać nawet 13 dni w środowisku wilgotnym. Prewencja zakażeń OvHV-2 obejmuje oddzielenie gatunków, o których wiadomo, że są nosicielami i gatunków podatnych na zarażenie oraz oddzielenie personelu i sprzętu tych gatunków. Przed wprowadzeniem owiec do miejsca, gdzie znajdują się inne gatunki wrażliwe, zaleca się wykonanie badań w celu wykluczenia zakażenia OvHV-2 u owiec. Szczególnym miejscem, gdzie głowica może wywoływać problemy i duże straty, są ogrody zoologiczne. Ponadto niewłaściwie prowadzone hodowle owiec mogą stanowić poważne zagrożenie zdrowia dla wolno żyjących gatunków przeżuwaczy objętych ochroną gatunkową, takich jak żubry lub kozice. Nie istnieją skuteczne szczepionki przeciwko MCF. 

Piśmiennictwo:

- O'Toole D, Li H. The pathology of malignant catarrhal fever, with an emphasis on ovine herpesvirus 2. *Vet Pathol.* 2014;51:437-52.
- Rola J., Larska M., Polak M.P., Żmudziński J. Głowica bydła – nowe dane na temat czynnika etiologicznego i diagnostyki choroby. *Medycyna Wet.* 2005;61:642-644.
- Dullin P., Galbas M., Mikowska A., Glanc P., Słomski R. Porównanie występowania zakażenia wirusem głowicy w dwóch stadach owiec z regionu Wielkopolski. *Medycyna Wet.* 2005;61:1046-1048.
- Rosenberg G. (Ed.). *Krankheiten des Rindes.* Verlag Paul Parey, Berlin un Hamburg, 1978, str. 848.
- Li, H., Taus, N. S., Jones, C., Murphy, B., Evermann, J. F., Crawford, T. B. A devastating outbreak of malignant catarrhal fever in a bison feedlot. *J Vet Diagn Invest.* 2006;18:119-123.
- Frontoso R., Autorino G.L., Friedrich K.G., Li H., Eleni C., Cocumelli C., Di Cerbo P., Manna G., Scicluna M.T. An Acute Multispecies Episode of Sheep-Associated Malignant Catarrhal Fever in Captive Wild Animals in an Italian Zoo. *Transbound Emerg Dis.* 2016;63:621-627.
- Partin TG, Schrenzel MD, Braun J, Witte CL, Kubiski SV, Lee J, Rideout BA. Herpesvirus surveillance and discovery in zoo-housed ruminants. *PLoS One.* 2021;16:e0246162.
- Russell, G. C., Stewart, J. P., & Haig, D. M. Malignant catarrhal fever: a review. *The Veterinary Journal.* 2009;79:324-335.
- Li, H., Cunha, C. W., Taus, N. S., & Knowles, D. P. Malignant catarrhal fever: inching toward understanding. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 2014;2:209-233.
- OIE Manual, 2021: <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/malignant-catharral-fever.pdf>
- Spickler A.R. 2019. Malignant Catarrhal Fever. https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/malignant_catarrhal_fever.pdf
- Bianchessi, L., Rocchi, M. S., Maley, M., Piccinini, R., Turin, L. Molecular Tools to Identify and Characterize Malignant Catarrhal Fever Viruses (MCFV) of Ruminants and Captive Artiodactyla. *Viruses* 2022;14:2697.
- VanDevanter D. R., Warren P., Bennett L., Schultz E. R., Coulter S., Garber R. L., and Rose T. M. Detection and analysis of diverse herpesviral species by consensus primer PCR. *J. Clin. Microbiol.* 3419961666-1671
- Dewals, B.G.; Gillet, L.; Gerdes, T.; Taracha, E.L.N.; Thiry, E.; Vanderplasschen, A. antibodies against bovine herpesvirus 4 are highly prevalent in wild african buffaloes throughout Eastern and Southern Africa. *Vet. Microbiol.* 2005;110:209-220.
- Gong M, Myster F, van Campe W, Roels S, Mostin L, van den Berg T, Vanderplasschen A, Dewals BG. Wildebeest-Derived Malignant Catarrhal Fever: A Bovine Peripheral T Cell Lymphoma Caused by Cross-Species Transmission of Alcelaphine Gammaherpesvirus 1. *Viruses.* 2023;15:526.



Coxiella burnetii

aktualna sytuacja epidemiologiczna i wpływ na parametry produkcyjne u bydła

Krzysztof Niemczuk, Monika Szymańska-Czerwińska, Agnieszka Jodełko

Zakład Chorób Bydła i Owiec, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Gorączka Q zaliczona została do „kategorii E,” co oznacza konieczność jej nadzoru w całej Unii. Ponadto, zgodnie z ustawą o ochronie zdrowia zwierząt i zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, jest chorobą podlegającą obowiązkowi rejestracji.

Gorączka Q to zakaźna choroba, która występuje na całym świecie, za wyjątkiem Nowej Zelandii, zarówno u ludzi jak i zwierząt. Czynnikiem etiologicznym jest *Coxiella burnetii*, bakteria Gram–ujemna, którą cechuje zmienność antygenowa oraz wewnątrzkomórkowy cykl rozwojowy. Z uwagi na powyższe, diagnostyka laboratoryjna choroby jest utrudniona, gdyż nie ma możliwości izolacji szczepów na standardowych podłożach mikrobiologicznych. Wzrost i namnażanie patogenu w laboratorium są możliwe tylko z wykorzystaniem linii komórkowych lub zarodków kurzych. *C. burnetii* cechuje się bardzo wysoką opornością na działanie czynników środowiskowych, co powoduje, że raz zawleczona do stada jest bardzo trudna do zwalczenia, a zakażenie przybiera z czasem charakter endemicznego. Zakażenia *C. burnetii* bardzo często mają przebieg subkliniczny, a siewstwo patogenu może być okresowe i odbywać się różnymi drogami, co dodatkowo utrudnia proces diagnostyczny. Objawy kliniczne, jeśli występują, nie są patognomoniczne i obejmują m.in.: podwyższenie temperatury wewnętrznej ciała, poronienia (najczęściej późne), przedwczesne porody, problemy z rozrodem, *mastitis*, rzadziej zapalenia płuc i stawów. Na zakażenia wrażliwe są różne gatunki zwierząt, począwszy od wolno żyjących np. przeżuwaczy, ptaków, czy gryzoni, a skończywszy na zwierzętach gospodarskich (bydło, owce i kozy), które są głównym

rezerwuarem *C. burnetii* (Garcia-Ispuerto, 2014; Joulié 2015). Zakażenia pomiędzy zwierzętami szerzą się drogą powietrzną, głównie przez pył z wysuszonych wydzielin i wydaliny, który może być roznoszony z wiatrem na odległość kilku kilometrów, a także przez bezpośredni kontakt z siewcami patogenu. Zakażenie drogą alimentarną (pokarmową) przez wiele lat było przedmiotem dyskusji, jednak wyniki badań publikowane w ostatniej dekadzie potwierdziły tę hipotezę (Jodełko, 2019; Miller, 2021; Signs, 2012; Shah, 2015;). Niemniej jednak najczęstszym i najbardziej efektywnym sposobem transmisji jest droga aerogenna. Możliwe jest też zakażenie podczas krycia lub sztucznej inseminacji nasieniem zakażonych buhajów.

C. burnetii wykazuje bardzo duże powinowactwo do komórek epitelialnych gruczołu mlekowego, stąd powszechne jest siewstwo z mlekiem, co w zestawieniu z zoonotycznym charakterem patogenu i możliwością zakażenia drogą pokarmową, stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego. U bydła najwyższy poziom siewstwa notowany jest w okresie okołoporodowym, następnie może ono spaść poniżej granicy wykrywalności metod diagnostycznych. Patogen często pozostaje wówczas w stanie utajenia w komórkach gruczołu mlekowego, układu rozrodczego i węzłach chłonnych, a reaktywacja siewstwa może wystąpić podczas kolejnych wyścieleń lub laktacji. Ponadto, w zakażonych sta-



dach obserwuje się negatywny wpływ na efekty produkcyjne.

Jak wynika z prowadzonych badań, ilość tłuszczu w mleku jest niższa u pierwiastek, u których serokonwersja wystąpiła do 42. dnia laktacji lub wystąpiło u nich siewstwo do dróg rodnych podczas porodu. Triacyloglicerydy tłuszczu mlecznego są syntetyzowane w gruczole mlekowym, przy czym żwacz, jelito cienkie, wątroba i magazyny tkanki tłuszczowej odgrywają rolę w dostarczaniu substancji prekursorowych (Gürtler, 2000). Garcia-Ispuerto i wsp. (2014) założyli, że gruczoł mlekowy może być bardziej atrakcyjny dla *C. burnetii* niż przewód pokarmowy, macica i środowisko pochwy, ponieważ zjawisko uporczywego siewstwa zidentyfikowano w mleku, ale nie w śluzie pochwy lub kale (Guateo, 2007). Co ciekawe, wydajność mleczna stada i zmniejszenie ilości tłuszczu mlecznego nie została stwierdzona u krów, u których serokonwersja pojawiła się później, tj. po 100/150 dniu. Można zatem wnioskować, że zakażenie *C. burnetii* podczas późnej ciąży lub wczesnej laktacji u pierwiastek jest stresorem zaburzającym parametry produkcji mleka. Z pewnością należy to łączyć ze statusem immunosupresji krów mlecznych w okresie okołoporodowym (Lewis, 2004), który sprzyja replikacji *C. burnetii*. Pomimo że w stadach endemicznie zakażonych ilość bakterii w środowisku jest na ogół bardzo wysoka, to ponad 20% pierwiastek nie wykazuje obecności przeciwciał oraz nie jest siewcami. Zakłada się, że przyczyną tego zjawiska może być genetyczna odporność osobników na zakażenie *C. burnetii* lub ich odporność wynika z wysokiego poziomu interferonu γ (Motsch, 2016). Podobnie w przypadku jałówek – większość osobników pozostaje zwierzętami niezakażonymi (Taurel, 2012; 2011).

Straty ekonomiczne związane z zakażeniem *C. burnetii*, na podstawie modelu symulacyjnego, opracowanego przez Narodową Szkołę Weterynarii w Tuluzie (Francja), w stadzie liczącym 200 krów mlecznych wynoszą 7 900 euro rocznie, gdy częstość występowania zakażeń jest niska (20%), ale wzrasta do prawie 20 000 euro (tj. 100 euro na krowę), gdy częstość jest wysoka (50%). Występowanie *C. burnetii* w stadzie wiąże się często z dodatkowymi kosztami leczenia. Wykazano, że zakażone krowy cechuje półtora

raza większe prawdopodobieństwo wystąpienia zatrzymania łożyska, a prawdopodobieństwo poporodowego zapalenia macicy i błony śluzowej macicy w zakażonych stadach jest o 2,5 razy większe. Na podstawie średniej częstości występowania zapalenia macicy i błony śluzowej macicy wynoszącej 15% w gospodarstwach krów mlecznych wolnych od zakażenia *C. burnetii* oszacowano, że w zakażonym stadzie liczącym 200 krów, roczna liczba przypadków zapalenia macicy i błony śluzowej macicy wzrosłaby z 30 do 75. Oznacza to, że dodatkowe 45 krów musiałoby zostać poddane leczeniu w związku z ww. przypadkościami. Zakażone krowy cechuje od 2 do 2,5 razy większe prawdopodobieństwo wystąpienia poronienia. Jeśli punktem odniesienia jest stado liczące 200 krów mlecznych, a odsetek poronień u zwierząt niezakażonych wynosi 2% to oznacza, że wystąpią 4 poronienia rocznie. W przypadku stada, w którym zakażonych jest 50% krów, dochodziłoby do 6. lub 7. poronień rocznie, czyli o 2 lub 3 więcej niż w stadzie niezakażonym. Koszt poronienia u krowy mlecznej szacuje się od 400 euro (w przypadku wczesnego poronienia) do 1000 euro (w późnym poronieniu). Jeśli przyjmiemy średnią wartość 700 euro, możemy zatem uznać, że straty spowodowane zakażeniem *C. burnetii* w przypadku wystąpienia poronień, w stadzie liczącym 200 krów, wyniosą 1400 euro. Badania Lopez-Gatius (2011), przeprowadzone w Hiszpanii wykazały, że krowy niezaszczepione przeciw *C. burnetii* charakteryzował o 14 dni dłuższy okres pomiędzy wcieleniem a zapłodnieniem. Ponadto wskaźnik pierwszego krycia był o blisko 10% niższy u niezaszczepionych zwierząt (30,1% vs. 40,9%). Badania przeprowadzone przez Barlow i wsp. (2008) dowodzą, że subkliniczne *mastitis* występuje o 5% częściej u krów, u których obserwuje się siewstwo *C. burnetii* z mlekiem, w porównaniu do zwierząt niezakażonych (Anon).


Gorączka Q w Polsce przez wiele dekad uznawana była za problem marginalny. Jednak, kiedy w latach 2007-2010 w Niderlandach wystąpiła epidemia gorączki Q, która swoim zasięgiem objęła istotną część państwa a ponad 4000 osób zachorowało, tamtejsze służby weterynaryjne podjęły decyzję o wybrakowaniu ponad 50 000 sztuk kóz będących źródłem zakażeń – uświadomiono sobie, jakie zagrożenie może stano-



wiść. Wówczas Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi w 2010 r. w Polsce podjął decyzję o włączeniu gorączki Q do krajowego programu monitorowania chorób zakaźnych zwierząt. Prowadzone już drugą dekadę badania, wykonywane przez Zakłady Higieny Weterynaryjnej oraz badania naukowe realizowane w ramach wieloletniego programu przez Krajowe Laboratorium Referencyjne ds. gorączki Q Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach wykazały, że *C. burnetii* jest patogenem powszechnie występującym w populacji bydła w Polsce.

Pierwszy przypadek gorączki Q w Polsce odnotowano w 1956 r. Największa epidemia tej choroby wystąpiła w Polsce południowo-wschodniej (Ulhówek, powiat hrubieszowski) w latach 1981-1982. Była to wówczas największa epidemia w skali Europy. Ognisko gorączki Q wystąpiło w stadzie bydła mlecznego, a zakażenia przeniosły się na ludzi, którzy mieli bezpośredni kontakt z bydłem lub spożywali surowe mleko od tych zwierząt. Zachorowało ponad 1000 osób, w tym dzieci. Niewiele jest danych literaturowych dotyczących sytuacji epidemiologicznej w Polsce w latach 80. i 90. minionego wieku. Istnieją opracowania, które potwierdzają, że *C. burnetii* była cały czas obecna w środowisku zwierząt gospodarskich w Polsce. Po akcesie Polski do Unii Europejskiej na początku XXI w., badania monitoringowe w ramach Programu Wieloletniego potwierdzały występowanie patogenu w stadach. Odsetek stad serododatnich był różny na przestrzeni ostatnich dwóch dekad, jak wynika z dostępnej literatury. Ostatnie badania prowadzone w latach 2018-2021 w ramach Programu Wieloletniego wykazały, że rzeczywisty poziom seroprewalencji w stadach bydła, oceniony na podstawie występowania przeciwciał w surowicy wynosi 10,5%. Siewstwo patogenu z mlekiem zostało stwierdzone w 24,81% (33/133) badanych stad, a obecność swoistych przeciwciał w mleku stwierdzono w aż 63,9% z nich. Największy odsetek stad serododatnich zanotowano w województwach: mazowieckim, świętokrzyskim i małopolskim ($\geq 30\%$ badanych stad) oraz kujawsko-pomorskim, warmińsko-mazurskim, podlaskim i śląskim: 15,1-30,0% badanych stad (Szymańska-Czerwińska, 2022). Wyniki te dowodzą, że zakażenia *C. burnetii* w stadach bydła

w Polsce stanowią istotny problem w kontekście produkcji i dystrybucji mleka w gospodarstwach, gdzie występują siewcy *C. burnetii*.

Z uwagi na częstość występowania *C. burnetii* w populacji bydła w Polsce i innych państwach, przy jednoczesnym braku możliwości zastosowania skutecznego leczenia zakażenia, należy zwracać szczególną uwagę na zasady bioasekuracji oraz weryfikować status zdrowotny nowych osobników wprowadzanych do hodowli. Jedynym sposobem na ograniczenie szerzenia się zakażeń oraz redukcję poziomu siewstwa w stadzie jest stosowanie szczepień. Niestety, szczepienie nie chroni w pełni przed zakażeniem. Stosowanie leczenia farmakologicznego w formie antybiotykoterapii (w tym przypadku lekiem z wyboru są tetracykliny), może nie przynosić zadowalających efektów, a dodatkowo naraża hodowcę na straty związane z karencją w dystrybucji mleka. 

Piśmiennictwo:

1. Anon. <https://ruminants.ceva.pro/coxiella-burnetii-in-cattle>.
2. Barlow J., Rauch B., Welcome, F., Kim S. G., Dubovi E., Schukken Y.: Association between *Coxiella burnetii* shedding in milk and sub-clinical mastitis in dairy cattle. *Vet Res* 2008, 39, 23.
3. Garcia-Ispuerto I., López-Helguera I., Tutusaus J., Serrano B., Monleón E., Badiola J. J., López-Gatius F.: *Coxiella burnetii* shedding during the peripartum period and subsequent fertility in dairy cattle. *Reprod Domes Anim* 2013, 48, 441-446.
4. Garcia-Ispuerto I., Tutusaus J., López-Gatius F.: Does *Coxiella burnetii* affect reproduction in cattle? A clinical update. *Reprod Domes Anim* 2014, 49, 529-535.
5. Guatteo R., Beaudéau F., Joly A., Seegers H.: *Coxiella burnetii* shedding by dairy cows. *Vet Res* 2007, 38, 849-860.
6. Gürtler H., & Schweigert, F. J. (2000). *Physiologie der Laktation*. In W. Engelhard & G. Breves (Eds.), *Physiologie der Haustiere* (pp. 572-593). Stuttgart, Germany: Enke.
7. Jodełko A., Szymańska-Czerwińska M., Kycko A., Niemczuk K. Evaluation of the Possibility of *C. Burnetii* Transmission by the Alimentary Route in a Guinea Pig Model. *J Vet Res*. 2019, 63, 311-315.
8. Joulié A., Laroucau K., Bailly X., Prigent M., Gasqui P., Lepetitoolin E., Blanchard B., Rousset E., Sidi-Boumedine K., Jourdain E.: Circulation of *Coxiella burnetii* in a naturally infected flock of dairy sheep: Shedding dynamics, environmental contamination, and genotype diversity. *Appl Environ Microbiol* 2015, 81, 7253-7260.
9. Lewis G. S.: Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Anim Reprod Sci* 2004, 82-83, 281-294.
10. Miller HK, Priestley RA, Kersh GJ. Transmission of *Coxiella burnetii* by ingestion in mice. *Epidemiol Infect.* 2020 Feb 5;148:e21
11. Motsch B., Alves, C., Janowitz B., Alex, M., Meier, N., Boettcher, J. (2016). Endemic infection with *Coxiella burnetii* in dairy cow herds follows a defined cycle. *Proceedings of the 29th World Buiatrics Congress*, Dublin, Ireland, 3-8 July 2016, 369.
12. Shah S.Y., Kovacs C., Tan C.D., Pettersson G., Shrestha N.K., Lutwick L., Gordon S.M.: Delayed diagnosis of Q fever endocarditis in a rheumatoid arthritis patient. *Case Reports* 2015, 26, 94-96.
13. Signs K., Stobierski M., Gandhi T.: Q fever cluster among raw milk drinkers in Michigan, 2011. *Clin Infect Dis* 2012, 55, 1387-1389.
14. Szymańska-Czerwińska M., Jodełko A., Osiński Z., Niemczuk K.: Screening for *Coxiella burnetii* in dairy cattle herds in Poland. *J Vet Res* 2022, 66, 549-557.
15. Taurel A. F., Guatteo R., Joly A., Beaudéau F.: Relationship between the level of antibodies in bulk tank milk and the within-herd seroprevalence of *Coxiella burnetii* in cows. *Epidemiol Infect* 2012, 140, 1710-1713.
16. Taurel A. F., Guatteo R., Joly A., Seegers H., Beaudéau F.: Seroprevalence of Q fever in naturally infected dairy cattle herds. *Prev Vet Med* 2011, 101, 51-57.



Chlamydioza bydła

epidemiologia, diagnostyka i profilaktyka zakażeń

Monika Szymańska-Czerwińska, Krzysztof Niemczuk, Kinga Zaręba-Marchewka

Zakład Chorób Bydła i Owiec – Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Obecność chlamydii w stadach bydła mlecznego może powodować zmniejszenie wydajności produkcyjnej mleka, zapalenie pochwy, wzrost liczby komórek somatycznych i obniżoną płodność

Choroby wywoływane przez chlamydie – bakterie z rodziny *Chlamydiaceae*, rzędu *Chlamydiales* – znane są od wielu wieków. Pomimo długiej historii ich istnienia, w dalszym ciągu nie zostały w pełni zbadane i poznane. Dużym utrudnieniem w prowadzeniu badań nad tymi mikroorganizmami jest ich wewnątrzkomórkowy i dwufazowy cykl rozwojowy. Taksonomia rodziny *Chlamydiaceae* na przestrzeni dwóch ostatnich dekad zmieniała się kilkakrotnie. Wprowadzenie podziału rodziny *Chlamydiaceae* na dwa rodzaje: *Chlamydia* i *Chlamydophila* wzbudzało wiele kontrowersji i dyskusji w środowisku naukowym. Ostatecznie, dzięki intensywnemu rozwojowi technik badania genomów, możliwa była ich szczegółowa analiza, która doprowadziła do zanegowania zasadności istnienia rodzaju *Chlamydophila* jako odrębnego taksonu i powrót do wspólnego dla wszystkich gatunków rodzaju *Chlamydia* (Sachse, 2015). Dlatego termin *Chlamydophila* nie jest już prawidłowy. Dodatkowo w ostatnim czasie rodzinę *Chlamydiaceae* rozszerzono o nowy rodzaj *Chlamydiifrater*. Jest on reprezentowany przez dwa gatunki: *Chlamydiifrater phoenicopteri* i *Chlamydiifrater volucris* (Vorimore, 2021). Do rodzaju *Chlamydia* aktualnie zalicza się 15 gatunków: *C. trachomatis*, *C. suis*, *C. muridarum*, *C. pneumoniae*, *C. abortus*, *C. caviae* i *C. felis*, *C. pecorum*, *C. psittaci*, *C. avium*, *C. gallinacea* i *C. buteonis*, *C. serpentis* i *C. poikilotherma* (pierwotnie nazwana *C. poikilothermis*) i *C. crocodili*.

Istnieje też kilka taksonów mających status kandydatów do gatunku, tj. *Cand. C. corallus*, *Cand. C. testudinis* i *Cand. C. sanizinia* i *Cand. C. ibidis*. (Sachse, 2014; Laroucou, 2019, Staub, 2018; Chaiwattananarungruengpaisan, 2021; Taylor Brown, 2016; Laroucau, 2019, 2020; Vorimore, 2013).

Na zakażenia chlamydiami wrażliwe są różne gatunki zwierząt zarówno wolno żyjących, towarzyszących człowiekowi, oraz hodowlanych, w tym bydło i małe przeżuwacze (Giovannini, 1988, Van Droogenbroeck, 2009). Bydło podatne jest głównie na zakażenia *C. abortus* i *C. pecorum*, chociaż notowane jest też u nich występowanie innych gatunków, np. *C. psittaci*, rzadziej *C. suis* (Godin, 2008). Zgodnie z definicją określoną w 1999 r. przez Everetta, *C. abortus* to gatunek występujący u ssaków, będący przyczyną ronień (Everett, 1999). Jednak intensywny rozwój technik biologii molekularnej, w tym sekwencjonowanie pełnych genomów patogenów (WGS, Whole Genome Sequencing), którego dokonał zespół z Krajowego Laboratorium Referencyjnego ds. chlamydiozy Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, doprowadził do zmiany tej definicji i rozszerzenia jej o szczepy ptasie, tzw. avian *C. abortus*, które występują tylko u ptaków (Szymańska-Czerwińska, 2017, Zaręba-Marchewka, 2021).

Pomimo że chlamydiozę u bydła kojarzy się z zakażeniami *C. abortus*, to częstszym problemem w stadach jest jednak *C. pecorum*. Biorąc pod



uwagę fakt, że chlamydie są drobnoustrojami łatwo przełamującymi bariery gatunkowe, notowane są też zakażenia bydła takimi gatunkami, które zazwyczaj mają innego gospodarza. Doskonałym przykładem jest przypadek wystąpienia *C. gallinacea* u bydła w Chinach, uznawana do niedawna za gatunek występujący tylko u drobiu. Nie wiadomo do tej pory, czy był to tylko przypadkowy transfer od ptaków, czy pierwszy etap rozwoju zakażenia w nowej niszy, jaką może być bydło dla *C. gallinacea* (Guo, 2016).

Chlamydie mogą powodować zakażenia objawowe, bezobjawowe, utajone, a także latentne (Mardh, 1989). W szerzeniu się zakażeń u bydła najistotniejsze jest siewstwo wraz z kałem, ale nie bez znaczenia jest też wydzielanie patogenu do pochwy, worka spojówkowego, wraz z wydzieliną z nosa, czy wodami płodowymi i łożyskiem, jak również moczem, czy nasieniem. Zakażenia szerzą się poprzez bezpośredni kontakt z siewcami lub w sposób pośredni poprzez drogę fekalno-oralną lub oddechową. Transmisja drogą płciową od buhajów może mieć miejsce zarówno podczas sztucznej inseminacji, jak i krycia naturalnego. Zakażenia wewnątrzmaciczne nie były do tej pory raportowane. Wiedza na temat przeżywalności chlamydii jest pomimo wszystko ograniczona, ale wiadomo, że są one dość odporne na niskie temperatury, suszę i ciemność, a wysokie temperatury znacząco redukują ich przeżywalność. Ciałka elementarne, jedna z form rozwojowych, są w stanie przetrwać do 17. dni w zimnej wodzie, a w wysuszonym kale, kurzu, ściółce nawet kilka miesięcy. Zamrażanie nasienia nie powoduje eliminacji patogenu.

Rola chlamydii w rozwoju poszczególnych objawów choroby uzależniona jest od wielu czynników, takich jak: wirulencji danego szczepu, niedoborów żywieniowych, złego zarządzania stadem i warunkami higienicznymi, jak również uwarunkowań genetycznych danego osobnika. Znacznie wyższy odsetek zakażeń chlamydiami notowany jest w stadach bydła mlecznego utrzymywanych w złych warunkach zoohigienicznych i wśród zwierząt niewłaściwie żywionych. Ponadto, czynnikiem sprzyjającym zakażeniu są fermy, gdzie cielęta nie są utrzymywane w odseparowanych kojcach i występuje duże zagęszczenie zwierząt (Vogel, 2006; Kemmerling, 2009).

Tropizm chlamydii do poszczególnych organów u bydła nie jest do końca poznany. Zakażenia mogą bowiem powodować wiele objawów klinicznych, jak: zapalenie płuc, jelit, wątroby, macicy, stawów, mózgu, ale też poronienia i zaburzenia w rozrodzie oraz przewlekłe *mastitits* (Reinhold, 2011). Wiadomo, że *C. abortus* u dorosłego bydła wykazuje największe powinowactwo do układu rozrodczego i gruczołu mlekowego. Z kolei inny gatunek *C. pecorum* najczęściej potwierdzany jest w chorobach płuc, stawów, przewodu pokarmowego i centralnego układu nerwowego (Kaltenboeck, 2009). Natomiast u cieląt, które uległy zakażeniu w stadzie macierzystym, najczęściej stwierdza się występowanie *C. pecorum* w układzie pokarmowym, podczas gdy *C. abortus* jest wykrywana w układzie oddechowym i worku spojówkowym (Reinhold, 2008). Są też przypadki zakażeń mieszanych u bydła: *C. psittaci* i *C. abortus*, *C. abortus* i *C. pecorum*, *C. abortus* i *C. suis*, *C. pecorum* i *C. suis* (Pantchev, 2009). Przebieg zapalenia płuc na tle zakażenia chlamydiami objawia się gorączką, osowiałością, wydzieliną z nosa, kaszlem i dusznością. Siewstwo chlamydii do układu rozrodczego stwierdzane jest zarówno u krów jak i buhajów z zapaleniem pęcherzyków nasiennych, jak również klinicznie zdrowych. Krowy mogą zostać zakażone zarówno podczas sztucznej inseminacji, jak i naturalnego krycia. Przy czym częściej zakażenia występują podczas naturalnego krycia. Ich następstwem mogą być poronienia lub upadki cieląt w okresie okołoporodowym. Prawdopodobieństwo poronienia jest 6,6 razy większe w przypadku krów seropozytywnych (Wehrend, 2005).

C. abortus u bydła wywołuje najczęściej zaburzenia ze strony układu rozrodczego, tzw. epizootyczne ronienie, które zidentyfikowano pierwszy raz w 1956 r. w USA, następnie chorobę zawleczono do Japonii, a w Europie do Niemiec, Austrii, Włoch, Rumunii, Bułgarii, Francji, Czech i Polski (Gliński, 2018). Objawia się zapaleniem macicy, ronieniami i bezpłodnością. U krów ciężarnych *C. abortus* namnaża się w łożysku powodując zapalenie i zmiany głównie w kosmówce oraz zakażenie płodu. Efektem są ronienia obserwowane najczęściej w 8-9 miesiącu ciąży, rzadko od 6., a nawet 4. miesiąca, oraz rodzenie niezdolnych



do życia cieląt. Ronieniom nie towarzyszą najczęściej objawy zwiastunowe. Krowy zazwyczaj ronią jeden raz, ale w kolejnych ciążach rodzą się żywe lub słabsze cielęta, bardziej podatne na zachorowania. Następstwem zakażenia krów, już podczas inseminacji, jest bezpłodność spowodowana obumarciem zarodka (Daniel, 1993; Kauffold, 2014). Badania wymazów pochwowych od krów we wczesnej fazie laktacji (stanowiące 10% zwierząt w stadzie), z losowo wyselekcjonowanych stad mlecznych metodą real-time PCR wykazały, że 13,5% z nich jest siewcami, podczas gdy występowanie na poziomie całego stada wynosiło 61%. Wykazano, że średnia roczna produkcja mleka była istotnie niższa w stadach zakażonych, liczba krów w laktacji zredukowała się (2,4 vs. 2,9). Jednocześnie obecność infekcji chlamydialnej była również skorelowana ze zwiększonym wskaźnikiem ronień, przedwczesnych porodów oraz śmiertelności w okresie okołoporodowym (Reinhold, 2011).

C. abortus u buhajów powoduje zapalenie jąder i najądrzy oraz powrózka nasiennego. Zakażone buhaje z każdym ejakulatem wydają znaczne ilości *C. abortus*. Dość charakterystycznym objawem chlamydiozy buhajów jest nagłe pojawianie się jedno lub obustronnego bolesnego obrzęku jąder. Niekiedy obrzęk obejmuje również powrózki nasienne. W przypadku obustronnego obrzęku jąder dochodzi zwykle do azoospermii (Kaltenboeck, 2005).

Zakażenia *C. abortus* i *C. pecorum* mają też związek z *mastitis*, włączając subkliniczny przebieg choroby. W takich przypadkach chlamydie wykrywane są w worku spojówkowym i pochwie u krów mlecznych. Subkliniczny przebieg zakażenia *C. pecorum* w stadach bydła mlecznego może mieć istotny wpływ na przyrosty masy ciała, których redukcja może sięgać nawet do 48% (Poudel, 2012). Obecność chlamydii w stadach bydła mlecznego może powodować zmniejszenie wydajności produkcyjnej mleka, zapalenie pochwy, wzrost liczby komórek somatycznych i obniżoną płodność (Walker, 2015). Na tle zakażenia chlamydiami u przeżuwaczy może też wystąpić zapalenie rogówki i spojówek, z charakterystycznym we wczesnych stadiach obustronnym łzawieniem, obrzękiem, przekrwieniem spojówek, następnie przechodząc w widoczne tworzenie się pęcherzyków

i neowaskularyzację rogówki (Smith, 2002). Ze względu na wieloczynnikowy charakter chorób oczu u zwierząt gospodarskich, wpływ *C. pecorum*, występującej pojedynczo lub w zakażeniach mieszanych (np. z *Mycoplasma* spp.), na zdrowie stada jest trudny do oszacowania. Ponadto, w przypadku infekcji mieszanych może wystąpić synergizm międzygatunkowy (Gupta, 2015). U młodego bydła zakażenia *C. pecorum* mogą powodować śmiertelne sporadyczne zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego (SBE, *sporadic bovine encephalomyelitis*), w przebiegu którego może także uczestniczyć *C. psittaci*. Chorobę cechuje uogólnione zapalenie naczyń krwionośnych, błon surowiczych i maziowych. Występuje wówczas zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego, infekcja ogólnoustrojowa i zapalenie błon surowiczych (Parkinson, 2010; Aiello, 2012). Objawy kliniczne obejmują: gorączkę, depresję, ptylizm, utratę masy ciała, sztywność kończyn i objawy neurologiczne, jak zataczanie się, krążenie i opisthotonos. Histologicznie włóknikowe zapalenie błon surowiczych obejmujące jamy opłucnej, otrzewnej i osierdzia. Jest częstym objawem wtórnym do zapalenia naczyń, które może wystąpić z lub bez proliferacji śródbłonna w wielu narządach (McNutt, 1940, Parkinson, 2010, Kessell, 2011, Aiello, 2012).

Konsekwencją zakażeń chlamydiami może być też utrata wagi lub nieprawidłowy rozwój, jako następstwo zapalenia stawów spowodowanego przez *C. pecorum*, które jest przyczyną znaczących strat ekonomicznych dla hodowców przeżuwaczy. Zapalenie wielostawowe ma najczęściej charakter zapalenia włóknikowego. Chore zwierzęta zwykle giną w ciągu 2-10 dni. Szacuje się, że w Australii *polyarthritis* kosztuje np. hodowlę owiec około 30 milionów dolarów (Sackett, 2006), przy czym 2,1% jagniąt i 1,6% cieląt w rzeźniach eksportowych zostało zdyskwalifikowanych w wyniku zapalenia wielostawowego (Pointon, 2008). Podobnie we Francji 2,4% odrzucań bydła w rzeźniach było spowodowanych *arthritis* (Dupuy, 2013).

U cieląt mogą też występować stany zapalne jelit wraz z biegunką na tle zakażenia *C. psittaci*, dla której pierwotnym gospodarzem są ptaki, zarówno hodowlane, jak żyjące wolno (Gliński, 2018). Dlatego należy unikać hodowli mieszanych (bydło – drób) lub stosować zasady wewnętrz-



nej bioasekuracji w gospodarstwie. Natomiast, w przypadku otwartych systemów hodowli, nigdy nie można wykluczyć transmisji od ptaków wolno żyjących, które są dość często siewcami *C. psittaci*. *C. pecorum* i *C. psittaci*, mogą być też przyczyną enzootycznej bronchopneumonii cieląt.


Dane literaturowe z ostatnich trzech dekad, pochodzące z różnych państw, wskazują na wysoki wskaźnik seroprewalencji dla *Chlamydia* spp. – w stadach bydła waha się on od 45% do 100%. Wysoki odsetek seropozytywnego bydła wskazuje, że chlamydie są bakteriami powszechnie występującymi. Trudno jednak odnosić wyniki badań serologicznych do faktycznego siewstwa *Chlamydia* spp., gdyż status indywidualnych osobników może ulegać zmianie na przestrzeni czasu, co wiąże się ze zjawiskiem siewstwa okresowego. Badania prowadzone w Niemczech i Stanach Zjednoczonych wykazały, że nawet w stadach klinicznie zdrowych, wskaźnik zakażeń waha się od 58,5–100% (Jee, 2004, Reinhold, 2011). *C. pecorum* wykrywana jest u tego samego zwierzęcia w różnych miejscach, np. nosie, kale, oku, pochwie, często w konfekcji z *C. abortus* (Jee, 2004, Reinhold, 2008). Badania w Irlandii dowiodły, że 57% stad jest seropozytywnych, ze średnią prewalencją na poziomie stada 4,75%, a poszczególne zwierzęta wykazywały obecność przeciwciał zarówno dla *C. pecorum*, jak i *C. abortus*.

W Polsce chlamydioza bydła jest przedmiotem badań realizowanych w ramach Programu Wieloletniego przez Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach. Badania wykonywane metodą serologiczną (rekomendowaną przez Światową Organizację Zdrowia Zwierząt: WOA) w ostatnich trzech latach wskazują, że odsetek stad bydła, w których stwierdzono osobniki serododatnie, wahał się między 18,35% a 39,29%. W stadach serododatnich rzadko potwierdzano zakażenia metodą real-time PCR. W 2020 r. w dwóch przypadkach wykryto obecność *C. pecorum* w wymazach z dróg rodnych pobranych od bydła. Próbkę do badań potwierdzających stanowiły wymazy z dróg rodnych. Nie badano innego rodzaju materiału biologicznego i nie powtarzano badań, co mogło wpłynąć na ich rezultaty, biorąc pod uwagę ewentualność siewstwa wieloma drogami oraz jego zmienność na przestrzeni czasu.

W leczeniu zakażeń zaleca się tetracykliny, makrolidy i chinolony. Badania dowiodły, że zastosowanie kombinacji doksycykliny z rifampicyną istotnie redukuje ciążka wtrętowe chlamydii w linii komórkowej, ale zastosowanie takiego schematu leczenia w eksperymentalnym zakażeniu zwierząt nie przyniosło tego samego efektu. Niestety, antybiotykoterapia często nie przynosi oczekiwanych rezultatów, a indukuje latentę. Dlatego niektórzy hodowcy w okresie 3. do 6. tygodni po leczeniu raportują *arthritis* i/lub *conjunctivitis*, albo rozwój przewlekłego zakażenia u zwierząt gospodarskich. Dowiedziono, że krótkotrwałe podawanie antybiotyków początkowo redukuje liczbę komórek bakteryjnych, ale w krótkim czasie następuje powrót do poziomu sprzed leczenia (Walker, 2015). Znacznie lepsze efekty niż antybiotykoterapia mogłoby przynieść szczepienie młodych zwierząt gospodarskich, tj. owiec i bydła. Testowany na modelu mysim szczep szczepionkowy *C. abortus* 1B daje zadowalającą ochronę krzyżową przed zakażeniem szczepami terenowymi *C. pecorum*, które wywołują roniecia u przeżuwaczy (Rekiki, 2004). W diagnostyce zakażeń chlamydiami u bydła stosuje się metody serologiczne, najczęściej jest to odczyn wiązania dopełniacza (OWD) w przypadku *C. pecorum*, natomiast do wykrywania przeciwciał dla *C. abortus* dostępny jest również test ELISA. OWD jest metodą prostą i tanią, ale niestety powoduje, że wyniki badań z jej wykorzystaniem są często niedoszacowane z powodu niewystarczającej czułości i specyficzności oraz występowania reakcji krzyżowych. W celu wykrycia siewstwa stosuje się metodę real-time PCR. Badania naturalnie zakażonych cieląt wykazały, że tylko u 8. z nich potwierdzono wynik dodatni w teście serologicznym, podczas gdy wszystkie z nich zostały potwierdzone jako siewcy *C. abortus* lub *C. pecorum* w badaniu metodą PCR.

Oprócz problemów zdrowotnych i strat ekonomicznych, jakie mogą wywoływać chlamydie u bydła, *C. abortus* oraz *C. psittaci* posiadają potwierdzony potencjał zoonotyczny stanowiąc zagrożenie dla zdrowia ludzi. Szczególnie niebezpieczna jest *C. abortus*, która może być przyczyną poronień u kobiet, przedwczesnych porodów, śmierci płodów, słabości noworodków. Objawy zakażenia u kobiet to gorączka i wymioty. Infekcja



może też przebiegać w postaci zapalenia płuc z suchym kaszlem, dusznością i złym samopoczuciem, kończącym się sinicą. Może wystąpić stan zapalny narządów w miednicy mniejszej (Pawlikowska, 2007). Dlatego ludzie narażeni na kontakt zawodowy z zakażonymi zwierzętami, w tym: hodowcy, lekarze weterynarii, inspekcja weterynaryjna, powinni przestrzegać zasad higieny pracy. 

Piśmiennictwo:

- Aiello S.E., Moses M.A.: Chlamydial polyarthritis-serositis in large animals. The Merck Veterinary Manual. http://www.merckvetmanual.com/mvm/musculoskeletal_system/arthritis_in_large_animals/overview_of_arthropathies_in_large_animals.html, 2012.
- Chaiwattanarungruenpaisan S., Thongdee M., Anuntakun S., Payungporn S., Arya N., Panchukrang A., Ramasoota P., Singhakaw S., Atitthep T., Sariya L.: A new species of *Chlamydia* isolated from Siamese crocodiles (*Crocodylus siamensis*). PLOS ONE. 2021, 16, e0252081.
- Daniel R.G., Holliman A., Daving G.P., Kirby F.D., Simpson V.R., Cranwell M.P., Dawson M., Griffiths P.C., Bevan B.J.: Bovine chlamydiosis in the United Kingdom. Vet Rec 1993, 133, 351–352.
- Dupuy C., Morignat, E., Maugy X., Vinard, J.L., Hendrikx, P., Ducrot, C., Calavas, D., Gay, E.: Defining syndromes using cattle meat inspection data for syndromic surveillance purposes: A statistical approach with the 2005–2010 data from ten French slaughterhouses. BMC Vet Res 2013, 9, 88.
- Everett KD, Bush RM, Andersen AA. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. Int J Syst Bacteriol. 1999; 49 Pt 2:415–40.
- Giovannini A., Cancellotti F.M., Turilli C., Randi E.: Serological investigations for some bacterial and viral pathogens in fallow deer (*Cervus dama*) and wild boar (*Sus scrofa*) of the San Rossore preserve, Tuscany, Italy. J Wild Dis 1988, 24, pp. 127–132.
- Gliński Z., Żmuda A.: Chlamydie i chlamydofile człowieka i zwierząt. Życie Weterynaryjne 2018, 93, 842–850.
- Godin A.C., Bjorkman C., Englund S., Johansson E.K., Niskanen R., Aleenius S.: Investigation of *Chlamydia* spp. in dairy cows with reproductive disorders. Acta Vet Scand 2008, 50, 39–44.
- Guo W., Li J., Kaltenboeck B., Gong J., Fan W., Wang C.: *Chlamydia gallinacea*, not *C. psittaci*, is the endemic chlamydial species in chicken (*Gallus gallus*). Sci Rep 2016, 6, 19638.
- Gupta S., Chahota R., Bhardwaj B., Priyanka P., Verma S., Sharma M.: Identification of chlamydiae and mycoplasma species in ruminants with ocular infections. Lett App Microbiol 2015, 60, 135–139.
- Jee J., Degraevs F.J., Kim T., Kaltenboeck B.: High prevalence of natural *Chlamydia* species infection in calves. J Clin Microbiol 2004, 42, 5664–5672.
- Kaltenboeck B., Hehnen H.R., Vaglenov A.: Bovine *Chlamydia* spp. infection: do we underestimate the impact on fertility? Vet Res Commun 2005, 29, 1–15.
- Kaltenboeck B., Heinen, E., Schneider R., Wittenbrink M.M., Schmeer N.: *OmpA* and antigenic diversity of bovine *Chlamydia pecorum* strains. Vet Microbiol 2009, 135, 175–180.
- Kauffold J., Wehrend A., Sigmarsson H.: Chlamydia and Chlamydia philia in bovine reproduction. Clin Theriogenol 2014, 6, 252–254.
- Kemmerling K., Müller U., Mielenz M., Sauerwein H.: *Chlamydia* species in dairy farms: polymerase chain reaction prevalence, disease association, and risk factors identified in a cross-sectional study in western Germany. J Dairy Sci 2009, 92, 4347–4354.
- Kessell A.E., Finnie J.W., Windsor P.A.: Neurological diseases of ruminant livestock in Australia. III: Bacterial and protozoal infections. Aust Vet J 2011, 89, 289–296.
- Laroucau K., Ortega N., Vorimore F., Aaziz R., Mitura A., Szymańska-Czerwińska M., Cicerol M., Salinas J., Sachse K., Caro M.R.: Detection of a novel *Chlamydia* species in captive spur-thighed tortoises (*Testudo graeca*) in southeastern Spain and proposal of *Candidatus Chlamydia testudinis*. Syst Appl Microbiol 2020, 43:126071.
- Laroucau K., Vorimore F., Aaziz R., Solimonsen L., Hsia R.C., Bavoil P.M., Fach P., Hölzer M., Wuenschmann A., Sachse K.: *Chlamydia buteonis*, a new *Chlamydia* species isolated from a red-shouldered hawk. Syst Appl Microbiol 2019, 42:125997.
- Mardh P.A., Paavonen J., Parlakainen M.: Chlamydia. Plenum Med Book Comp 1989.
- McNutt S.H., Waller E.F.: Sporadic bovine encephalomyelitis (Buss disease). Cornell Veterinarian 1940, 30, 437–448.
- Pantchev, A., Sting, R., Bauerfeind, R., Tyczka, J., Sachse, K.: New real-time PCR tests for species-specific detection of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia abortus* from tissue samples. Vet J 2009b, 181, 145–150.
- Pantchev A., Sting R., Bauerfeind R., Tyczka J., Sachse, K.: Detection of all *Chlamydia* and *Chlamydia* spp. of veterinary interest using species-specific real-time PCR assays. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2009a, 33, 473–484.
- Parkinson T. J., Vermunt J.J., Malmø J.: Sporadic bovine encephalomyelitis. Diseases of Cattle in Australasia: A Comprehensive Textbook 2010, 832 – 833.
- Paton M.W., Rose I.R., Sunderman F.M., Holm Martin M.: Effect of mulesing and shearing on the prevalence of *Erysipelothrix rhusiopathiae* arthritis in lambs. Aust Vet J 2003 81, 694–697.
- Pawlikowska M., Deptuła W.: Choroby u ludzi spowodowane chlamydiami chlamydofilami. Postepy Hig Med Dosw 2007, 61, 708–717.
- Pointon A., Jackowiak J., Slade J., Paton M.: Review of surveillance data capture systems in abattoirs Meat and Livestock Australia 2008. <http://www.mla.com.au/off-farm/Project-outcomes/Supporting-the-supply-chain/Review-of-surveillance-data-capture-systems-in-abattoirs>.
- Poudel A., Elsasser T.H., Shamsur Rahman K.H., Chowdhury E.U., Kaltenboeck B.: Asymptomatic endemic *Chlamydia pecorum* infections reduce growth rates in calves by up to 48 percent. PLoS ONE 2012, 7, e44961.
- Reinhold P., Jaeger J., Liebler-Tenorio E., Berndt A., Bachmann R., Schubert E., Melzer F., Elschner M., Sachse K.: Impact of latent infections with *Chlamydia* species in young cattle. The Vet J, 2008, 175, 202–211.
- Reinhold P., Sachse K., Kaltenboeck B.: *Chlamydiaceae* in cattle: Commensals, trigger organisms, or pathogens? Vet J 2011a, 189, 257–267.
- Reinhold P., Sachse, K., Kaltenboeck B.: *Chlamydiaceae* in cattle: Commensals, trigger organisms, or pathogens? Vet J 2011b, 189, 257–267.
- Rekiki A., Bouakane A., Hammami S., El Idrissi A.H., Bernard F., Rodolakis A.: Efficacy of live *Chlamydia abortus* vaccine 1B in protecting mice placentas and fetuses against strains of *Chlamydia pecorum* isolated from cases of abortion. Vet Microbiol 2004, 99, 295–299.
- Sachse K., Laroucau K., Riege K., Wehner S., Dilcher M., Creasy H.H., Weidmann M., Myers G., Vorimore F., Vicari N., Magnino S., Liebler-Tenorio E., Ruettger A., Bavoil P.M., Hufert F.T., Rosselló-Móra R., Marz M.: Evidence for the existence of two new members of the family Chlamydiaceae and proposal of *Chlamydia avium* sp. nov. and *Chlamydia gallinacea* sp. nov. Syst Appl Microbiol 2014, 37:79–88.
- Sachse K., Bavoil P.M., Kaltenboeck B., Stephens R.S., Kuo C.C., Rosselló-Móra R., Horn M.: Emendation of the family Chlamydiaceae: proposal of a single genus, Chlamydia, to include all currently recognized species. Syst Appl Microbiol 2015, 38, 99–103.
- Sackett D., Holmes P., Abbott K., Jephcott S., Barber M.: Assessing the economic cost of endemic disease on the profitability of Australian beef cattle and sheep producers. Meat and Livestock Australia. 2006 <https://www.mla.com.au/research-and-development/reports/2007/assessing-the-economic-cost-of-endemic-disease-on-the-profitability-of-australian-beef-cattle-and-sheep-producers/>.
- Smith, B.P.: Large Animal Internal Medicine, Third Ed. Mosby, St. Louis, MO USA. 2002.
- Staub E., Marti H., Biondi R., Levi A., Donati M., Leonard C.A., Ley S.D., Pillonel T., Greub G., Seth-Smith H.M.B., Borel N.: Novel *Chlamydia* species isolated from snakes are temperature-sensitive and exhibit decreased susceptibility to azithromycin. Sci Rep 2018, 8, 1–14.
- Szymańska-Czerwińska M., Mitura A., Niemczuk K., Zaręba K., Jodełko A., Pluta A., Scharf S., Vitek B., Aaziz R., Vorimore F., Laroucau K., Schnee C.: Dissemination and genetic diversity of chlamydial agents in Polish wildfowl: Isolation and molecular characterisation of avian *Chlamydia abortus* strains. PLOS ONE 2017, 12, e0174599.
- Taylor-Brown A., Bachmann N.L., Borel N., Polkinghorne A.: Culture-independent genomic characterisation of *Candidatus Chlamydia sanzinia*, a novel uncultivated bacterium infecting snakes. BMC Genom 2016, 17, 710.
- Van Droogenbroeck C., Beeckman D.S., Verminnen K., Marien M., Nauwynck H., Boesinghe L.D.T.D., Vanrompuy D.: Simultaneous zoonotic transmission of *Chlamydia psittaci* genotypes D, F and E/B to a veterinary scientist. Vet Microbiol 2009, 135, 78–81.
- Vogel M., Jaeger F., Winkelmann J., Sachse K.: Chlamydiae in Rinderbeständen – Ergebnisse eines Monitorings. 6. Berlin-Brandenburgischer Rindertag. 2006.
- Vorimore F., Hsia R., Huot-Creasy H., Bastian S., Deruyter L., Passet A., Sachse K., Bavoil P., Myers G., Laroucau K.: Isolation of a New *Chlamydia* species from the Feral Sacred Ibis (*Threskiornis aethiopicus*): *Chlamydia ibidis*. PLOS ONE 2013, 8, e74823.
- Vorimore F., Hölzer M., Liebler-Tenorio E., Barf L.M., Delannoy S., Vittecoq M., Wedlarski R., Léou A., Scharf S., Blanchard Y., Fach P., Hsia R.C., Bavoil P.M., Rosselló-Móra R., Laroucau K., Sachse K.: Evidence for the existence of a new genus *Chlamydiifrater* gen. nov. inside the family Chlamydiaceae with two new species isolated from flamingo (*Phoenicopterus roseus*): *Chlamydiifrater phoenicopteri* sp. nov. and *Chlamydiifrater volucris* sp. nov. Syst Appl Microbiol 2021, 44:126200.
- Walker E., Lee E. J., Timms P., Polkinghorne A.: *Chlamydia pecorum* infections in sheep and cattle: A common and under-recognised infectious disease with significant impact on animal health. Vet J 2015, 206, 252–260.
- Wehrend, A., Failing K., Hauser B., Jäger C., Bostedt H.: Production, reproductive, and metabolic factors associated with chlamydial seropositivity and reproductive tract antigens in dairy herds with fertility disorders. Theriogenology 2005, 63, 923–930.
- Zaręba-Marchewka K., Szymańska-Czerwińska M., Livingstone M., Longbottom D., Niemczuk K.: Whole Genome Sequencing and Comparative Genome Analyses of *Chlamydia abortus* Strains of Avian Origin Suggests That *Chlamydia abortus* Species Should Be Expanded to Include Avian and Mammalian Subgroups. Pathogens 2021, 10, 1405.



Zastosowanie pegbowigrastymu do stymulacji układu odpornościowego u bydła

Katarzyna Dudek, Ewelina Szacawa, Dariusz Bednarek

Zakład Chorób Bydła i Owiec – Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Mechanizm działania pegbowigrastymu polega m.in. na stymulacji układu immunologicznego bydła poprzez indukowanie wzrostu liczby głównych komórek układu immunologicznego odpowiedzialnych za odporność wrodzoną.

Czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów bydlęcych (bovine granulocyte colony-stimulating factor, bG-CSF) należy do grupy cytokin występujących w warunkach fizjologicznych u bydła, które biorą czynny udział w powstawaniu w szpiku kostnym prekursorów dla komórek układu białokrwinkowego, w tym granulocytów. Pegylowana forma bG-CSF (PEG bG-CSF), znana pod nazwą pegbowigrastym, opracowana została pierwotnie w celu jej stosowania u krów mlecznych i jałówek w profilaktyce klinicznej formy zapalenia gruczołu mlekowego i jeszcze niedawno była dostępna w formie komercyjnego preparatu przeznaczonego do stosowania u tej grupy wiekowej bydła. Mechanizm działania pegbowigrastymu polega m.in. na stymulacji układu immunologicznego bydła poprzez indukowanie wzrostu liczby głównych komórek układu immunologicznego odpowiedzialnych za odporność wrodzoną, do których bez wątplenia należą neutrofile. Oprócz wpływu na liczbę neutrofilów, pegbowigrastym wykazuje również zdolność do stymulacji aktywności bójczej tych komórek, w którą zaangażowany jest głównie proces fagocytozy (Chase, 2022).

Dotychczas badania działania pegbowigrastymu prowadzone były na szeroką skalę u dorosłego bydła i głównie dotyczyły profilaktycznego działania tej cytokiny w zapaleniach gruczołu mlekowego u krów (Barca i wsp., 2021a; Ruiz i wsp.,

2017). Korzystny wpływ pegbowigrastymu na układ odpornościowy krów mlecznych w okresie okołoporodowym wykazano natomiast w badaniach Trimboli i wsp. (2019). Pegbowigrastym podawany był w tym przypadku drogą podskórnej iniekcji w dwóch dawkach (po 15 mg/zwierzę każda), pierwsza – w krótkim okresie poprzedzającym poród oraz druga – w ciągu kilku godzin po wycieleniu. Iniekcja pegbowigrastymu wywołała istotne podwyższenie ogólnej liczby leukocytów krwi krążącej, co było widoczne zwłaszcza po drugim podaniu cytokiny, i stanowiło w dużej mierze wypadkową stymulacji ze strony neutrofilów. Pegbowigrastym stymulował efektywnie także wzrost liczby innych komórek układu odpornościowego, tj. monocytów i bazofilów oraz w mniejszym stopniu limfocytów i eozynofiliów. Podanie pegbowigrastymu powodowało ponadto obniżenie wartości parametru wskazującego na zawartość mieloperoksydazy (mieloperoxidase, MPO) – enzymu związanego ściśle z degranulacją neutrofilów, co świadczyć mogło o aktywacji mechanizmów bakteriobójczych (Trimboli i wsp., 2019; Yonezawa i wsp., 2010). Istotne podwyższenie liczby neutrofilów krwi krążącej powodowane iniekcją pegbowigrastymu u krów mlecznych w okresie okołoporodowym potwierdzono także w badaniach Van Schyndel i wsp. (2018). Badania przeprowadzone przez Barca i wsp. (2021b) również stanowią dowód na korzystny wpływ podawania pegbowigrastymu



krowom mlecznym w okresie okołoporodowym, który przejawiał się stymulacją wzrostu komórek układu odpornościowego, w tym neutrofilów. W badaniach tych wykazano też, że pomimo zmian w koncentracji niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych, których podwyższona koncentracja wiązała się z supresją odpowiedzi ze strony układu białokrwinkowego u zwierząt kontrolnych, iniekcja pegbowigrastymu powodowała stymulację wzrostu neutrofilów i monocytów u krów traktowanych tą cytokiną. Ponadto stymulacja wzrostu liczby neutrofilów krwi krążącej po podaniu pegbowigrastymu była nadal widoczna u krów ze zdiagnozowanym zatrzymaniem łożyska i zapaleniem macicy, w porównaniu z kontrolą (Barca i wsp., 2021b).

W innych badaniach pegbowigrastym użyto do terapii infekcji na tle *Staphylococcus aureus* u krów rasy mlecznej (Putz i wsp., 2019). Zwierzętom zw podskórnej iniekcji podano dwukrotnie cytokiny w dawce 15 mg/zwierzę, w 7-dniowym odstępie czasu w warunkach trwającego już zakażenia indukowanego dowymieniową iniekcją *S. aureus*. Podanie pegbowigrastymu wywołało silną odpowiedź ze strony układu białokrwinkowego, która przejawiała się wyraźną stymulacją wzrostu liczby neutrofilów krwi krążącej, zarówno macierzystych, jak i pęteczkowatych, z przewagą dla tych pierwszych. W przypadku obydwu form neutrofilów odpowiedź ta była silniejsza po drugiej iniekcji pegbowigrastymu. Istotne podwyższenie liczby limfocytów krwi krążącej było widoczne po drugim podaniu cytokiny, z kolei ze strony monocytów nie obserwowano żadnych istotnych zmian w ich liczbie w odpowiedzi na obydwie dawki pegbowigrastymu. Pomimo stymulacji ogólnie pojętej odporności u zakażonych krów, wyrażonej znaczącą odpowiedzią ze strony neutrofilów, zmiany pozostałych parametrów poddanych analizie, jak liczba komórek somatycznych i bakterii w mleku, czy ekspresja niektórych markerów powierzchniowych związanych z neutrofilami i monocytami wskazały, że cytokina ta nie spełniała w tym przypadku właściwości terapeutycznych. Stąd powinna być stosowana raczej profilaktycznie w celu wzmacniania odporności u bydła, co może przyczynić się do efektywniejszej odpowiedzi immunologicznej gospodarza na czynniki zakaźne (Putz i wsp., 2019).

Badania McDougall i wsp. (2017) wykazały natomiast stymulujący wpływ pegbowigrastymu na odpowiedź ze strony neutrofilów, pomimo indukowania u krów poddanych iniekcji cytokiny ujemnego bilansu energetycznego w okresie poprzedzającym poród. W okresie tym występują bowiem często zaburzenia ważnych funkcji neutrofilów, takich jak fagocytoza, chemotaksja czy wybuch tlenowy (Hoeben i wsp., 1997; Moyes i wsp., 2009; Suriyasathaporn i wsp., 1999). Zmiany w żywieniu krów nie tylko nie zahamowały pobudzającego wpływu tej cytokiny na liczbę neutrofilów, ale także nie blokowały ich zdolności do degranulacji, co przejawiało się zwiększonym uwalnianiem przez te komórki MPO. Pegbowigrastym wpływał również stymulująco na odpowiedź ze strony innych komórek układu odpornościowego, jak monocyty (McDougall i wsp. 2017).

Pegbowigrastym może mieć również pewne właściwości profilaktyczne w odniesieniu do ryzyka stosowania antybiotykoterapii u krów mlecznych w przypadkach zapaleń gruczołu mlekowego i innych zaburzeń chorobowych diagnozowanych we wczesnej laktacji (Cook, 2020). Wyniki badań z udziałem bydła dorosłego wskazują, że pegbowigrastym może znaleźć zastosowanie tam, gdzie zachodzi ryzyko immunosupresji, która nierzadko towarzyszy okresowi przejściowemu u krów. Dlatego zasadne wydało się podjęcie badań nad wpływem podawania tej cytokiny cielętom, zwłaszcza w kontekście stymulacji odporności w tak newralgicznym okresie dla ich odchowu, jakim jest okres neonatalny czy poodsadzeniowy.

Jedne z pierwszych badań nad zastosowaniem pegbowigrastymu u cieląt dotyczyły oceny wpływu tej rekombinowanej cytokiny m.in. na wybrane parametry układu biało-i czerwonekrwinkowego, wskaźniki biochemiczne krwi u klinicznie zdrowych zwierząt oraz tych poddanych eksperymentalnemu zakażeniu z wykorzystaniem lipopolisacharydu (LPS) *Escherichia coli* (Kegles, 2019). Podskórna iniekcja pegbowigrastymu w dawce 25 µg/kg m.c. u klinicznie zdrowych cieląt w wieku do 10. dnia życia powodowała istotne podwyższenie ogólnej liczby leukocytów krwi krążącej, w porównaniu do grupy kontrolnej otrzymującej placebo w postaci roztworu soli fizjologicznej. Wzrost ten był wypadkową istotne-



go podwyższenia liczby badanych subpopulacji leukocytów krwi krążącej, tj. segmentowanych neutrofilów, pałeczkowatych granulocytów oraz monocytów. Z pozostałych parametrów, które mogą być niejako wypadkową wzmocnionej odporności badanych cieląt, oceniano ich średnie dzienne przyrosty masy ciała (average daily gains, ADG) przez 60 dni życia. Wyniki oceny tego parametru wykazały niewielki wzrost średniej wartości ADG u cieląt poddanych iniekcji pegbowigrastymu między 14. a 21. dniem życia, jednak wartości te nie były statystycznie istotnie wyższe w porównaniu do tych obserwowanych u zwierząt kontrolnych. Analizie poddano również inne parametry hematologiczne, takie jak np. liczba pozostałych komórek układu białokrwinkowego biorących udział zarówno we wrodzonych (eozynofile), jak i adaptacyjnych (limfocyty) mechanizmach odporności u bydła, liczba erytrocytów i koncentracja hemoglobiny oraz inne parametry układu czerwokrwinkowego. W tym przypadku także nie wykazano różnic statystycznie istotnych w odniesieniu do kontroli. Podobnie ocena wybranych parametrów biochemicznych, takich jak białko całkowite, białka ostrej fazy (albumina – albumin, ALB i haptoglobina) i inne wskaźniki szeroko rozumianych przemian metabolicznych, np. mocznik, kreatynina (creatinine, CREAT), wybrane enzymy tzw. prób wątrobowych, tj. aminotransferaza asparaginianowa i gamma-glutamylotransferaza (gamma glutamyl transferase, GGT), nie wykazała istotnych zmian wartości parametrów po podaniu pegbowigrastymu. Natomiast podanie pegbowigrastymu starszym cielętom, w 30-60 dniu życia, u których eksperymentalnie wywołano endotoksemię powodowało wyraźną stymulację wzrostu ogólnej liczby leukocytów krwi krążącej, która miała odzwierciedlenie w podwyższonej liczbie segmentowanych neutrofilów i limfocytów. W tych warunkach u cieląt otrzymujących pegbowigrastym obserwowano także zdecydowany, chociaż krótkotrwały, wzrost liczby pałeczkowatych granulocytów pomimo iniekcji LPS *E. coli* poprzedzającej podanie cytokiny. Stymulacja wzrostu liczby analizowanych komórek układu białokrwinkowego po podaniu pegbowigrastymu była osłabiona przez wcześniejszą iniekcję endotoksyny, w porównaniu do zwierząt niepoddawanych zakażeniu, jednak pomimo


braku różnic istotnych statystycznie wyraźnie zaznaczona w odniesieniu do cieląt, które nie otrzymały cytokiny. Iniekcja pegbowigrastymu u cieląt zakażonych eksperymentalnie LPS nie wywoływała istotnych różnic w wartościach innych parametrów hematologicznych, takich jak liczba eozynofilów, monocytów i erytrocytów, odsetek hematokrytu czy też koncentracja fibrynogeny. Inaczej kształtowały się natomiast zmiany wartości niektórych wskaźników biochemicznych u cieląt otrzymujących pegbowigrastym w warunkach eksperymentalnie indukowanej endotoksemii. Wskaźniki, takie jak ALB, mocznik czy paraoksonaza 1, osiągały istotnie niższe wartości w porównaniu do cieląt poddanych iniekcji samego pegbowigrastymu, co w większości przypadków wynikało prawdopodobnie z wpływu samej endotoksyny. Z drugiej strony, obserwowano istotnie podwyższone wartości CREAT, GGT oraz białka C-reaktywnego u cieląt otrzymujących pegbowigrastym w warunkach endotoksemii, w porównaniu do zwierząt poddanych jedynie iniekcji cytokiny. Zdaniem autorów obserwowane zmiany ww. parametrów nie świadczyły o istotnym wpływie pegbowigrastymu na kształtowanie się profilu metabolicznego u zwierząt z indukowaną endotoksemią, ponieważ niektóre z nich były porównywalne do tych obserwowanych u cieląt kontrolnych lub też wskazywały na wyraźne następstwo iniekcji LPS. Podanie pegbowigrastymu klinicznie zdrowym cielętom stymulowało istotnie wzrost liczby komórek układu odpornościowego odpowiedzialnych za wrodzone mechanizmy obronne organizmu. Iniekcja tej cytokiny w warunkach eksperymentalnie indukowanej endotoksemii wywoływała także widoczne, chociaż słabiej wyrażone, podwyższenie liczby komórek zaangażowanych zarówno we wrodzoną jak i adaptacyjną odporność pomimo tych niekorzystnych dla zwierzęcia warunków. Wyniki zaprezentowanych badań wskazują na ogólnie korzystne działanie pegbowigrastymu u cieląt klinicznie zdrowych, zwłaszcza w kontekście stymulacji ich odporności wrodzonej. Z powyższych badań wynika również, że cytokina ta może znaleźć zastosowanie w profilaktyce nieswoistej biegunek cieląt na tle zakażeń *E. coli* (Kegles, 2019).

W ramach badań własnych podjęto próbę zastosowania pegbowigrastymu do stymulacji



odporności u cieląt zakażonych eksperymentalnie *Mycoplasma bovis* (Dudek i wsp., 2022). W tym celu cielęta poddano dwukrotnej podskórnej iniekcji pegbowigrastymem w dawce 40 µg/kg m.c. w 7-dniowym odstępie czasu. Podanie drugiej dawki cytokiny poprzedzała inokulacja cieląt terenowym szczepem *M. bovis*. W odpowiedzi na pierwszą iniekcję pegbowigrastymu obserwowano wyraźną stymulację wzrostu liczby granulocytów i monocytów krwi krążącej, komórek zaangażowanych w mechanizmy odporności wrodzonej. Kolejna iniekcja cytokiny w warunkach indukowanego eksperymentalnie zakażenia *M. bovis* nie tylko utrzymywała zainicjowany uprzednio wzrost liczby tych komórek, ale dodatkowo w pierwszych dniach po podaniu powodowała nawet jego intensyfikację. Podanie pegbowigrastymu cielętom nie tylko wpływało istotnie na stymulację wzrostu liczby granulocytów krwi krążącej, ale również na ich aktywność fagocytarną, co miało bezpośrednie odzwierciedlenie w zmianach odsetka komórek fagocytujących wykazujących zdolność do pochłaniania bakterii, który uległ istotnemu podwyższeniu zwłaszcza w pierwszych dniach po iniekcji cytokiny. Z kolei stymulacja aktywności bójczej granulocytów była bardziej wyrażona po drugim podaniu pegbowigrastymu pomimo współistniejącego zakażenia cieląt *M. bovis*. Podanie cielętom pegbowigrastymu wpływało również istotnie na inną aktywność badanych komórek układu odpornościowego, ważną z punktu widzenia obrony gospodarza przed zakażeniem, jaką jest wybuch tlenowy fagocytów (Dudek i wsp., 2022). Zdolność do produkcji reaktywnych form tlenu w następstwie kontaktu fagocytów z mikroorganizmami należy do naturalnych mechanizmów bakteriobójczych organizmu gospodarza (Chase i wsp., 2022). Iniekcja pegbowigrastymu oddziaływała stymulująco zwłaszcza na aktywność enzymatyczną granulocytów i monocytów krwi krążącej, co było widoczne jeszcze przed inokulacją, a także w warunkach trwającego już zakażenia *M. bovis* (Dudek i wsp., 2022).

Immunostymulujące właściwości pegbowigrastymu wielokrotnie potwierdziły wyniki badań prowadzone na szeroką skalę u bydła. Ta rekombinowana cytokina w warunkach *in vivo* skutecznie stymuluje bowiem mechanizmy odporności

wrodzonej i adaptacyjnej nie tylko u dorosłego bydła, dla którego została pierwotnie przeznaczona, ale także u cieląt, co zwiększa możliwości jej zastosowania. Konieczne są dalsze badania, zwłaszcza na cielętach, w celu potwierdzenia bezpieczeństwa i korzystnego działania tej cytokiny u bydła. 

Piśmiennictwo:

- Barca J., Meikle A., Bouman M., Gnemmi G., Ruiz R., Schukken Y.H. 2021a. Effect of pegbovigrastim on clinical mastitis and uterine disease during a full lactation in grazing dairy cows. PLoS One 16, e0252418.
- Barca J., Schukken Y.H., Meikle A. 2021b. Increase in white blood cell counts by pegbovigrastim in primiparous and multiparous grazing dairy cows and the interaction with prepartum body condition score and non-esterified fatty acids concentration. PLoS One 16, e0245149.
- Chase C.C.L., Walsh C., Casademunt S., Viejo J., Angás P., Hernández A., Gragera J., Izaguerri M. et al. Bovine Immunity: Making Immunology and Vaccinology Come Alive. HIPRA, S. A.: Amer, Girona, Spain, 2022.
- Cook J.G. 2020. Effect of pegbovigrastim treatment on the incidence of post-calving antimicrobial treatments in four UK dairy herds. Vet. J. 259-260, 105479.
- Dudek K., Szacawa E., Wasiak M., Bednarek D., Reichert M. 2022. The Effect of Pegbovigrastim Injection on Phagocytic and Oxidative Burst Activities of Peripheral Blood Granulocytes and Monocytes in Calves Challenged with *Mycoplasma bovis*. Pathogens 11, 1317.
- Hoeben D., Heyneman R., Burvenich C. 1997. Elevated levels of beta-hydroxybutyric acid in periparturient cows and in vitro effect on respiratory burst activity of bovine neutrophils. Vet. Immunol. Immunopathol. 58, 165-170.
- Kegles F., Madruga O.C., Schmoeller E., Bragança L.F., Londero U.S., Marins L., Feijó J.O., Corrêa M.N., Schmitt E., Del Pino F.A.B. 2019. Hematological and biochemical parameters of dairy calves submitted to pegbovigrastim administration. J. Dairy Sci. 102, 547-556.
- McDougall S., LeBlanc S.J., Heiser A. 2017. Effect of prepartum energy balance on neutrophil function following pegbovigrastim treatment in periparturient cows. J. Dairy Sci. 100, 7478-7492.
- Moyes K.M., Drackley J.K., Salak-Johnson J.L., Morin D.E., Hope J.C., Looor J.J. 2009. Dietary-induced negative energy balance has minimal effects on innate immunity during a *Streptococcus uberis mastitis* challenge in dairy cows during midlactation. J. Dairy Sci. 92, 4301-4316.
- Putz E.J., Eder J.M., Reinhardt T.A., Sacco R.E., Casas E., Lippolis J.D. 2019. Differential phenotype of immune cells in blood and milk following pegylated granulocyte colony-stimulating factor therapy during a chronic *Staphylococcus aureus* infection in lactating Holsteins. J. Dairy Sci. 102, 9268-9284.
- Ruiz R., Tedeschi L.O., Sepúlveda A. 2017. Investigation of the effect of pegbovigrastim on some periparturient immune disorders and performance in Mexican dairy herds. J. Dairy Sci. 100, 3305-3317.
- Suriyasathaporn W., Daemen A.J., Noordhuizen-Stassen E.N., Dieleman S.J., Nielen M., Schukken Y.H. 1999. Beta-hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes. Vet. Immunol. Immunopathol. 68, 177-186.
- Trimboli F., Morittu V.M., Di Loria A., Minuti A., Spina A.A., Piccoli-Cappelli F., Trevisi E., Britti D., Lopreato V. 2019. Effect of Pegbovigrastim on Hematological Profile of Simmental Dairy Cows during the Transition Period. Animals (Basel). 9, 841.
- Van Schyndel S.J., Carrier J., Bogado Pascottini O., LeBlanc S.J. 2018. The effect of pegbovigrastim on circulating neutrophil count in dairy cattle: A randomized controlled trial. PLoS One 13, e0198701.
- Yonezawa K., Horie O., Yoshioka A., Matsuki S., Tenjin T., Tsukamura Y., Yoneda M., Shibata K., Koike Y., Nomura T., Yokoyama M., Urahama N., Ito M. 2010. Association between the neutrophil myeloperoxidase index and subsets of bacterial infections. Int. J. Lab. Hematol. 32, 598-605.



Paratuberkuloza

Marek Lipiec

Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Zwalczanie paratuberkulozy jest trudne ze względu na długi okres inkubacji choroby oraz brak wystarczająco czułych i swoistych metod jej rozpoznawania we wczesnym stadium. Diagnostyka jest jeszcze trudniejsza, gdyż u części zwierząt zakażonych nie rozwija się kliniczna postać choroby.

Paratuberkuloza (nazywana też od nazwiska odkrywcy chorobą Johnego) jest przewlekłą chorobą, głównie przeżuwaczy, wywoływaną przez prątek *Mycobacterium paratuberculosis*. Zgodnie z nowymi danymi, podobieństwo jego materiału genetycznego do prątka ptasiego jest tak duże, że jest traktowany jako jego podszczep, z nazwą *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*.

Po raz pierwszy choroba została zaobserwowana przez Johnego i Frothinghama w Niemczech, w 1895 r. Frederick Harmes, badając przypadki tej formy choroby w Oldenburgu, w Niemczech, w 1894 r. stwierdzał, że jest to forma jelitowa zwykłej gruźlicy bydłowej. Badania prowadzone w kolejnych latach dowiodły jednak, że zaobserwowane objawy chorobowe, jak i prątki obserwowane w preparatach sporządzonych z chorobowo zmienionej błony śluzowej jelit, są inne niż w przypadkach gruźlicy wywołanej przez *Mycobacterium bovis*.

Rozpowszechnienie gruźlicy u bydła w ówczesnym czasie znacznie utrudniało wyodrębnienie paratuberkulozy jako osobnej jednostki chorobowej z uwagi na liczne infekcje mieszane. Ostatecznie w 1906 r. chorobę opisano jako tzw. chorobę Johnego. Odkrycia dokonane w Europie zostały potwierdzone przez Leonarda Persona w 1908 r., który opisał liczne przypadki paratuberkulozy u bydła w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej. Sam drobnoustrój wywołujący paratuberkulozę wyodrębniono znacznie

później, gdyż badacze natrafili na duże trudności w jego hodowli. Ostatecznie zarazek znalazł swoje miejsce w Bergey's Manual w 1923 roku, jako *Mycobacterium paratuberculosis*.

W kolejnych latach liczni badacze stwierdzali obecność prątków kwasoodpornych w materiale pochodzącym z jelit różnych gatunków zwie-



fot. 1. Heinrich Albert Johnne – odkrywca prątka paratuberkulozy.



rząt, głównie od hodowlanych przeżuwaczy na całym świecie – bydła, owiec oraz kóz. W ostatnich latach XX wieku występowanie paratuberkulozy potwierdzono m.in. w większości państw Afryki, Ameryki Południowej, Australii i Azji południowo-wschodniej. W Europie początkowo przyjęto, że choroba dotyczy głównie państw skandynawskich oraz części północno-zachodniej kontynentu. W Polsce po raz pierwszy chorobę rozpoznano w latach 70., a istnienie wielu ognisk potwierdzono w ostatnich latach XX w. i pierwszych XXI w. w różnych częściach kraju.

Czynnik zakaźny

Jak wspomniano, obecnie prątek paratuberkulozy, ze względu na bardzo bliskie powinowactwo antygenowe do *Mycobacterium avium*, jest powszechnie uważany za podszczep prątka ptasięgo – *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. W praktyce weterynaryjnej funkcjonuje popularna nazwa drobnoustroju – prątek Johnego. Jednocześnie uwagę zwraca fakt znacznie mniejszego powinowactwa antygenowego prątka paratuberkulozy do grupy *Mycobacterium complex*, w skład której wchodzi *Mycobacterium bovis* i *Mycobacterium tuberculosis*, niż do prątków grupy MAC (*Mycobacterium avium-complex*). Skutkuje to m.in. większą opornością prątka Johnego na środki dezynfekcyjne i leki przeciwaprątkowe niż klasycznego prątka gruźlicy.

Prątek paratuberkulozy ma rozmiary ok. 0,5-1,5 μm , niekiedy zbliżony jest nawet formą do ziarniaków, jest Gram-dodatni, barwi się na niebiesko metodą Grama, zaś w metodzie Ziehl-Neelsena przyjmuje zabarwienie czerwone, charakterystyczne dla prątków kwasoopornych. Powierzchnia komórek tego gatunku jest szorstka (fot. 2), a wewnątrz komórek obecne są liczne wakuole i inkluzje wewnątrzkomórkowe, powodujące niejednolite wybarwienie komórki bakteryjnej. Ściana komórkowa, jak wszystkich prątków, cechuje się dużą zawartością wosków (4-25%) stanowiących dodatkową barierę mechaniczną ochraniającą komórki bakteryjne przed wpływem warunków zewnętrznych. Prątek ten ma możliwość bytowania, a nawet mnożenia się wewnątrz makrofagów wskutek neutralizowania produkowanych przez nie anty-



fot. 2. Prątki paratuberkulozy – widok z mikroskopu skaningowego.

Główną cechą odróżniającą *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* od innych gatunków prątków jest tempo wzrostu. O ile prątki należące do grupy *Mycobacterium complex* czy MAC tworzą na specjalnych podłożach widoczne nieuzbrojonym okiem kolonie w ciągu 4-6 tygodni, to wzrost szczepów prątka Johnego w bezpośrednich posiewach z kału bydłowego może trwać 15-20 tygodni, a szczepów pochodzących z prób uzyskanych od owiec i kóz – jeszcze dłużej. Brak wzrostu tego prątka na popularnych podłożach służących do hodowli prątków wynika z braku możliwości syntetyzowania czynnika wzrostowego mycobactin. Czynniki te, produkowane przez wszystkie inne gatunki prątków, musi być dostarczony do hodowli prątka Johnego z zewnątrz. Jest on zwykle dodawany do podłoży w postaci wyciągów alkoholowo-acetonowych sporządzonych z masy bakteryjnej prątków szybko rosnących, np. prątka tymotki, *Mycobacterium phlei*.

Oprócz przeżuwających zwierząt hodowlanych, paratuberkuloza może występować także u dzikich przeżuwaczy (jelenie, żubry) i zwierząt przeżuwających przetrzymywanych w ogrodach zoologicznych. W badaniach nad występowaniem choroby stwierdzono przypadki paratuberkulozy także u zwierząt niebędących przeżuwaczami, np. u dzikich królików, niektórych gatunków zwierząt drapieżnych, a także ptaków i naczelnych.



Patogeneza choroby

Głównym rezerwuarem zarazka są zwierzęta zakażone, będące bezobjawowymi nosicielami i siewcami prątków oraz chore, dzięki przeżuwanym korzystającym z tych samych pastwisk co bydło lub owce. Choroba przenosi się głównie poprzez wodę i paszę zanieczyszczoną odchodami zwierząt chorych. Prątki *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* są wydalone obficie z kałem chorych zwierząt, głównie w późniejszym stadium choroby. Zakażenie następuje zwykle *per os*. Ze zwierzęcia na zwierzę choroba przenosi się przy bezpośrednim kontakcie. Najczęściej do zakażenia dochodzi u cieląt ssących poprzez siałę i mleko ze strzyków zanieczyszczonych kałem. Zakażenie jest tym łatwiejsze, że prątek Johnego może przebywać w środowisku zewnętrznym przez szereg miesięcy, a nawet lat w stanie zdolnym do wywołania infekcji. Zakażenie może nastąpić także drogą śródmaciczną wskutek implantacji zakażonych zarodków lub błędów w przeprowadzaniu badania *per rectum* w stadzie. Prątki paratuberkulozy wyodrębniano z łożyska krów, a także z płodów. Do tychczas nie stwierdzano jednak u zakażonych płodów charakterystycznych zmian chorobowych w jelitach. Badania własne nie wykazały także obecności zarazka w nasieniu.

Do wystąpienia choroby usposabia intensywna hodowla zwierząt, duże zagęszczenie w obiektach, braki pokarmowe, ciąża i poród oraz immunosupresyjne działanie różnych czynników, np. zakażenie wirusem BVDV.

Prątki te wykazują ścisłe powinowactwo do błony śluzowej i podśluzowej jelit cienkich przeżuwaczy. W sprzyjających warunkach namnażają się obficie w łącznotkankowej błonie podśluzowej, co prowadzi do przerostowego stanu zapalnego ściany jelita, z wystąpieniem biegunek stopniowo wyniszczających organizm zwierzęcia. Prątki, wchłonięte *per os*, są w organizmie zwierzęcia natychmiast fagocytowane przez makrofagi. Bramą wejścia infekcji są zwykle kępkki Peyera, będące wtórnymi narządami limfatycznymi w postaci nie otorbionych grudek limfatycznych występujących w ścianie jelita. Są one szczególnie dużymi skupiskami supresorowych limfocytów T oraz limfocytów proliferujących. Kontakt z układem immunologicznym zwierzęcia nastę-

puje zwykle w końcowym odcinku jelita krętego i w jelicie czczym a wchłonięte drobnoustroje są prezentowane przez makrofagi i komórki dendryczne limfocytom T.

Szczególność wrażliwości zwierząt młodych na zakażenie prątkami paratuberkulozy tłumaczona jest m.in. dużą liczbą kępek Peyera u osobników młodych. Wraz z wiekiem ich liczba się zmniejsza, jak i podatność zwierząt na zakażenie prątkiem paratuberkulozy. Niektóre rasy bydła (Jersey, Limousin) wydają się także być szczególnie podatne na zakażenie i szybki rozwój choroby.

Objawy kliniczne

Najczęściej forma kliniczna choroby jest zainicjowania występującymi w otoczeniu zwierząt czynnikami usposabiającymi. Zwykle jest to ciąża i poród, nagły stres lub zmiana systemu żywienia. Okres inkubacji choroby jest długi i waha się od kilku miesięcy do kilku lat. Wybitnie przewlekły charakter choroby powoduje zwykle późne wystąpienie objawów klinicznych, które ujawniają się w pełni najczęściej w ostatnim stadium paratuberkulozy.

Głównymi objawami paratuberkulozy są uporczywa biegunka i stopniowy spadek masy ciała, prowadzący w końcowym okresie choroby do wyniszczenia organizmu. Chore zwierzęta słabiej przyswajają składniki odżywcze paszy. Uszkodzona błona śluzowa powoduje także ucieczkę drobnocząsteczkowych białek, prowadząc do chronicznej hypoproteinemii i niedoborów mikroelementów istotnych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu.

Wyniszczająca, długotrwała, nie dająca się leczyć biegunka, trwa niekiedy wiele miesięcy. Im jest intensywniejsza, tym szybciej następuje śmierć zwierzęcia. W przebiegu paratuberkulozy u bydła intensywność biegunki może być różna, nawet z okresowym zanikaniem. U owiec i kóz, z powodu dużej zdolności organizmu do resorpcji wody z jelit, biegunka zwykle nie występuje, ale kał jest papkowaty i zdeformowany. Łaknienie i pobieranie paszy nie jest zwykle zaburzone. W przebiegu paratuberkulozy często pojawiają się chełboczące obrzęki przestrzeni podżuchwowej i okolicy mostka. Obrzęki te mogą pojawiać się okresowo u bydła. Nie stwierdzano ich u owiec, kóz i innych gatunków przeżuwaczy.



Brak patognomonicznych objawów powoduje trudności w klinicznym rozpoznawaniu choroby i często prowadzi do postawienia złej diagnozy i nieprawidłowego leczenia. Próby leczenia biegunki, mimo dużych dawek leków, nie przynoszą istotnej poprawy. Wielu właścicieli zwierząt pozbywa się ich bez postawienia ostatecznego rozpoznania i pozostają nieświadomi istnienia w stadzie infekcji zagrażającej hodowli.

Zmiany anatomopatologiczne

Pierwotna lokalizacja zmian anatomopatologicznych związana jest bezpośrednio z miejscem wniknięcia prątków do organizmu. Zmiany we wczesnym okresie infekcji są stwierdzane w kępkach Peyera, najczęściej w odcinku jelita czczego i biodrowego. Wraz z rozwojem choroby zmiany dotyczą kolejnych, sąsiednich warstw i części błony śluzowej i podśluzowej jelit, obejmując po pewnym czasie (zależnym od statusu immunologicznego zwierzęcia) cały odcinek jelita. Zmiany ograniczające się do ogniska pierwotnego mogą pozostawać bez infiltracji otaczających tkanek przez długi czas, a bodźcem ich rozwoju mogą być wymienione wcześniej czynniki usposabiające. Z czasem w przebiegu zakażenia rozwija się typowe, ziarniniakowate zapalenie jelit. Proces ten wikłany jest niekiedy infekcjami pasożytniczymi.

Należy podkreślić, że obraz zmian anatomopatologicznych jest ściśle związany ze statusem immunologicznym zwierzęcia. Często w stadach zakażonych paratuberkulozą stwierdzane są różne stopnie zmian anatomopatologicznych oraz różne etapy odpowiedzi immunologicznej organizmu zwierząt, stąd praktycznie niemożliwe jest ustalenie w trakcie dochodzenia epizootycznego czasu, jaki upłynął od momentu zakażenia do powstania określonego obrazu anatomopatologicznego.

Nasilenie zmian anatomopatologicznych nie jest natomiast zbieżne w wielu przypadkach z intensywnością objawów klinicznych. Zwierzęta mogą zachowywać dobrą kondycję pomimo że błona śluzowa jelit cienkich w zaatakowanych miejscach jest pofałdowana, znacznie zgrubiała, układająca się w poprzeczne fałdy, co znacznie ogranicza wchłanianie składników pokarmowych, W badaniu sekcyjnym miejscami widoczne są zaczerwienienia, drobne wybroczyny, przekrwienia lub owrzodzenia śluzówki a u zwierząt zakażonych pigmentowanymi szczepami *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (głównie owiec) błona śluzowa może przybierać odcień żółto-pomarańczowy (fot. 3). Zmiany w układzie limfatycznym obejmują także węzły chłonne krezkowe. Są one zwykle powiększone, przekrwione, obrzękłe, ale bez charakterystycznych dla gruźlicy zmian wytwórczych (gruzełków).



fot. 3. Charakterystyczne zmiany błony śluzowej jelita u zwierzęcia poddanego badaniu sekcyjnemu.



Czasami u osobników zakażonych obserwuje się także zgrubienie naczyń limfatycznych i zaawansowaną arteriosklerozę. Zmiany histopatologiczne mogą mieć charakter gruzełkowaty bądź rozlany. Warstwa właściwa błony śluzowej jelita zawiera zwykle duże ilości makrofagów oraz komórek olbrzymich. Są one zazwyczaj wypełnione prątkami kwasoopornymi. Najwcześniejsze zmiany ogniskowe obserwuje się w koniuszkach kosmków jelitowych. W przynależnych węzłach chłonnych, wypełnione prątkami makrofagi i komórki olbrzymie pierwotnie gromadzą się w części zatokowej węzłów, a z czasem także w ich części korowej. W zaawansowanym stadium choroby, w węzłach chłonnych oraz w błonie śluzowej jelit spotkać można serowate ogniska nekrozy i zwapnienia.

Najczęściej spotykaną zmianą histopatologiczną u bydła jest obecność licznych makrofagów, w których cytoplazmie znajdują się prątki. Błona podśluzowa jest nacieczona makrofagami z obecnością komórek olbrzymich Langerhansa. Mniej liczne są natomiast limfocyty oraz granulocyty.

Rzadszą formą są zmiany spotykane głównie u owiec i kóz. Charakteryzują się one większą obecnością limfocytów i komórek olbrzymich, a znaczna część tkanek wykazuje obecność serowacenia i wysycenia solami wapnia. U małych przeżuwaczy powierzchnia zaatakowanej błony śluzowej pokryta jest często włóknikiem. Tendencja zmian anatomopatologicznych u owiec do serowacenia i wapnienia jest główną cechą różnicującą je od zmian u bydła. W przeciwieństwie do zmian u bydła, u kóz i owiec prątki Johnego są nieliczne lub nawet niewykrywalne w obrębie zmienionych tkanek.

Odpowiedź immunologiczna

Jak wspomniano, grudki limfatyczne występujące w ścianie jelita są dużymi skupiskami limfocytów supresorowych i limfocytów proliferujących. Większość antygenów fagocytowanych przez makrofagi ulega rozpadowi i degradacji. Wchłonięte prątki wewnątrz makrofagów utrzymują się jednak żywe i przez długi czas zachowują swoją immunogenność. Jako antygeny są „prezentowane” komórkom T. Pod wpływem tego kontaktu uwalniane są cytokiny charakterystyczne dla wczesnego stadium infekcji, m.in. γ -inter-

feron i interleukiny. Immunogenność antygeny utrzymującego się długi czas w makrofagach zapoczątkowuje nie tylko pierwotną odpowiedź immunologiczną, ale powoduje pojawienie się komórek pamięci reagujących na następne dawki antygeny wtórną odpowiedzią immunologiczną. Odpowiedź komórkowa w przebiegu paratuberkulozy pojawia się pierwsza, stąd we wczesnej fazie infekcji skuteczne są testy wykrywające to zjawisko, jak np. test γ -interferonowy. Z czasem odpowiedź komórkowa zwykle ulega osłabieniu, a dominującą rolę odgrywa odpowiedź typu humoralnego. Niekiedy jednak, w przypadku rozproszonych zmian anatomopatologicznych, niewielkiej liczebności bakterii i skąpo prątkowego procesu chorobowego, odpowiedź komórkowa pozostaje dominująca. Mechanizmy komórkowe mają też główne znaczenie obronne, zarówno w przebiegu paratuberkulozy, jak i gruźlicy bydłowej. Aktywacja makrofagów inaktywuje prątki i powstawanie nacieku komórkowego typu ziarniny. W trakcie procesu chorobowego wykształca się też nadwrażliwość typu późnego – DTH, wykorzystywana w trakcie reakcji tuberkulinowej.

Rozpad makrofagów i uwalnianie prątków w trakcie rozwoju choroby wzmacnia powstawanie swoistych przeciwciał. Pobudzenie humoralne jest wykorzystywane głównie do celów diagnostycznych (ELISA). Wydaje się, że spośród występujących różnych klas przeciwciał, przeciwciała klasy IgG najlepiej korelują z rozwiniętym, czynnym procesem chorobowym i klinicznym obrazem paratuberkulozy u przeżuwaczy. Brak jest swoistych przeciwciał w anergii, w późnym stadium choroby lub wskutek tworzenia kompleksów immunologicznych „maskujących” swoiste przeciwciała.

Forma i stopień zmian anatomopatologicznych rzutuje na pojawiającą się odpowiedź immunologiczną organizmu. Możliwość różnorodnej odpowiedzi immunologicznej sprawia duże trudności diagnostyczne i konieczność stosowania zarówno testów opierających się na stwierdzeniu odpowiedzi humoralnej, jak i komórkowej.

Materiał do badań i postępowanie z próbkami

Zależnie od stosowanych laboratoryjnych metod rozpoznawania paratuberkulozy, materiał do



badani stanowi pełna krew, surowica (do badań serologicznych) lub tkanki i kał (badania mikroskopowe, hodowlane, PCR).

Surowice wydzielone z próbek krwi silnie zhemoizowanej lub zanieczyszczonej florą bakteryjną nie nadają się do badań (szczególnie w OWD). Czynniki te wzmagają antykomplementarną aktywność surowic, trudną do usunięcia inaktywacją termiczną. Silnie antykomplementarne działanie mają także wszystkie związki chemiczne wiążące jony Mg i Ca.

Krew należy pobierać do jałowych, jednorazowych probówek, odstawić na 30 min. w temperaturze pokojowej i przesać gońcem do laboratorium. Należy unikać zarówno zamrażania próbek, jak i ich przegrzewania. W razie trudności z dostarczeniem prób tego samego dnia, dopuszczalne jest ich przechowywanie w temperaturze chłodni do następnego dnia, pod warunkiem wcześniejszego pozostawienia ich na kilka godzin w temperaturze pokojowej celem formowania skrzepu. W laboratorium skrzep należy delikatnie oddzielić od ścianek probówki, w razie potrzeby odwirować przez 10 min. przy 1000 obrotów/min. Klarowne surowice, odciągnięte jałowymi pipetami, należy przechowywać w temperaturze chłodni do czasu badania. W razie konieczności surowice mogą być też konserwowane azydkiem sodu tak, aby stężenie końcowe tego związku w surowicy wynosiło 0,02%. Surowice można także przechowywać w stanie głębokiego zamrożenia przez wiele miesięcy bez utraty swoich właściwości.

Tkanki, głównie wycinki jelita lub węzły chłonne, należy dostarczać do badań w jałowych pojemnikach lub woreczkach foliowych. Kał do badania powinien być pobrany z jak najdalszego miejsca prostnicy, tuż przy ścianie jelita. Aby zminimalizować wzrost pleśni, pojemnik powinien być wypełniony całkowicie kałem, bez powietrza. Próbkę powinny być przechowywane w temperaturze chłodni i w ciągu 48 godzin dostarczone do badań.

Metody i testy rozpoznawcze

Techniki stosowane w rozpoznawaniu paratuberkulozy zależą w dużej mierze od etapu infekcji i jej rozprzestrzenienia w stadzie. Główne działania powinny sprowadzać się do wykrycia zakażonych

prątkiem Johnego zwierząt w jak najmłodszym wieku. Ideałem byłaby identyfikacja i eliminacja wszystkich zwierząt w subklinicznej fazie zakażenia. Cechy choroby, jej przewlekłość oraz stosunkowo powolny rozwój w organizmie zwierzęcia powodują, że we wstępnym etapie choroby brak jest zarówno siewstwa zarazka z kałem, jak i immunologicznej odpowiedzi organizmu.

W klinicznej fazie choroby zadanie to jest łatwiejsze. Zwykle w kale zwierząt chorych pojawiają się prątki, zaś w surowicy krwi obecne są swoiste przeciwciała, wykrywalne w testach serologicznych. Doniesienia wskazują też, że prątki mogą pojawiać się w kale zwierząt chorych jeszcze przed wystąpieniem objawów klinicznych. Zjawisko to może dotyczyć głównie owiec z rozwinętym skąpo-prątkowym typem infekcji.

Dostępne obecnie testy diagnostyczne można podzielić na dwie podstawowe grupy: pierwszą stanowią testy opierające się na wykryciu i identyfikacji zarazka lub jego DNA w dostępnym materiale; zaliczyć tu można badanie mikroskopowe, z użyciem preparatów odciskowych lub mazanych z tkanek lub kału, barwionych metodą Ziehl-Neelsena, badanie hodowlane z tkanek lub kału zwierząt chorych z zastosowaniem podłoży różnicujących oraz test PCR. Przyżyciowe, pozytywne wyniki tych testów są uzależnione od obecności *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* w kale, co ma zwykle miejsce w późniejszym stadium choroby. Drugą grupę stanowią testy stwierdzające obecność odpowiedzi immunologicznej organizmu chorego zwierzęcia (humoralnej lub komórkowej). Zaliczamy tu test ELISA bez wcześniejszej preabsorbacji lub preabsorbowany, odczyn wiązania dopełniacza, test immunodyfuzji w żelu agarowym (AGID) oraz test γ -interferonowy.

Póba mikroskopowa wykonywana jest na preparatach odciskowych, mazanych bądź z osadu służącego do posiewu w badaniu hodowlanym. Test ten jest szybką i tanią metodą diagnostyczną. Opiera się na stwierdzeniu w badanych preparatach, barwionych klasyczną metodą Ziehl-Neelsena na gorąco, charakterystycznie zgrupowanych komórek prątka Johnego. Interpretację uzyskanych wyników utrudniać może obecność atypowych prątków pochodzących ze środowiska oraz fakt, że siewstwo zarazka z kałem może być okresowe lub brak go we



wczesnym okresie choroby. W związku z tym próba mikroskopowa posiada stosunkowo niską czułość w pierwszym okresie zakażenia organizmu, jednakże w fazie klinicznej jej czułość może sięgać nawet 100%.

W prawidłowym wykonaniu barwienia istotne jest przedłużenie etapu odbarwiania kwaśnym alkoholem tak, aby tkanki lub fragmenty kału pozbyć wstępnie przyjętego barwnika – fuksyny karbolowej. Preparaty nie mogą być zbyt grube, a ich utrwalanie termiczne winno być delikatne. Sporządzone preparaty należy oglądać w powiększeniu 1000 x, pod immersją. Zwykle sprawdzanych jest 50 kolejnych pól widzenia a wyniki odnotowywane w specjalnych formularzach. Stwierdzenie pojedynczych komórek prątków kwasoodpornych, nawet w kilku polach widzenia, nie stanowi o dodatnim wyniku badania. Rozpoznanie opiera się na stwierdzeniu szeregu skupisk krótkich, grubych form kilkudziesięciu lub więcej prątków. Wyniki, zgodnie z ogólnie przyjętymi zasadami, oznacza się w zakresie od + do +++.

W trakcie badania mikroskopowego niemożliwe jest wnioskowanie co do gatunku stwierdzonego prątka kwasoodpornego. Pewne wstępne i bardzo ogólne wnioski można wyciągnąć na podstawie morfologii komórek prątków. Prątki typu ludzkiego i ptasiego są długie i cienkie, zaś typu bydłęcego oraz paratuberkulozy krótkie i grube, zbliżone nawet do ziarniaków.

Podstawę rozpoznawania paratuberkulozy jest **próba hodowlana** i izolowanie zarazka z tkanek pobranych w czasie badania sekcyjnego metodą biopsji, zabiegów chirurgicznych lub z kału. Należy podkreślić, że próba ta posiada 100% swoistość, a jej wyniki są podstawą oceny wyników testów serologicznych stosowanych w diagnostyce. Test ten jest jednak pracochłonny, niezmiernie czasochłonny i jednocześnie drogi. Najbardziej newralgicznym etapem procedury badania jest dekontaminacja próbki, tak aby pozbyć się całej flory bakteryjnej (w tym spor bakteryjnych i komórek grzybów pleśniowych) z zachowaniem żywych komórek prątka. W tym celu do wstępnego opracowania prób tkankowych (głównie węzłów chłonnych lub fragmentów ściany jelita cienkiego) używa się zwykle metody z użyciem 5% kwasu szczawiowego, podobnie jak ma to miejsce w badaniach w kierunku gruźlicy. Można stoso-

wać także metodę alkaliczną z zastosowaniem 4% roztworu NaOH. Innego postępowania wymagają próby kału, które traktuje się 0,9% roztworem chlorku heksadecylpirydyny. Metoda hodowlana, pomimo zalety pełnej swoistości, jest jak wspomniano niezmiernie czasochłonna. Wykonanie badania wymaga od 10. tygodni w badaniach prób pochodzących od bydła, do nawet 25. tygodni dla prób od kóz i owiec.

Klasyczne podłoża stosowane w badaniach są sporządzone na bazie żółtka jaj kurzych, z dodatkiem barwników (głównie zieleni malachitowej). Niezbędnym uzupełnieniem zastosowanych podłoży Lowensteina-Jensena lub Herrolda (HEYM) jest mycobactin. Pierwsze kolonie prątków widoczne pod powiększeniem pojawiają się po 5-25 tygodniach. Potwierdzenie identyczności wyodrębnionych szczepów przeprowadza się przy jednoczesnym posiewie na podłoża z mycobactinem i bez niego. Brak wzrostu na podłożach zwykłych i jednoczesny wzrost prątka na podłożach wzbogaconych pozwala zidentyfikować izolat jako *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Identyfikacja taka może być również wykonana poprzez zastosowanie techniki PCR z próbkami pobranymi z hodowli w fazie widocznego wzrostu prątka.

Istotne znaczenie w wykrywaniu zarazka, a raczej jego materiału genetycznego, zarówno u ludzi jak i u zwierząt, mają **testy genetyczne**. Polegają one na znalezieniu w badanym materiale sekwencji kwasu nukleinowego charakterystycznej dla *M. avium* subsp. *paratuberculosis*. Trudność w badaniach tego typu stanowi ściśle pokrewieństwo antygenowe i ponad 90% zgodność materiału genetycznego *M. avium* subsp. *paratuberculosis* i *M. avium* subsp. *avium*. Pewne fragmenty DNA są jednak na tyle charakterystyczne, że umożliwiają identyfikację zarazka. Większość wykonywanych testów bazuje na elemencie insercyjnym IS900. Wspomniany element występuje zwykle w genomie w 14-18 kopiach. Stwierdzono, że testy oparte na wykrywaniu tego fragmentu pozwalają na potwierdzenie infekcji nawet przy obecności ok. 10 komórek *M. avium* subsp. *paratuberculosis* w 1. gramie kału lub tkanek.

Głównym problemem we wspomnianej technice są trudności z odpowiednim przygotowaniem próbki i ekstrakcją komórek prątków, co



może wiązać się z uzyskaniem wyników fałszywie ujemnych. Może to być spowodowane niewielką liczebnością prątków w danej porcji kału, co wiąże się z wczesnym stadium infekcji, jak i obecnością inhibitorów reakcji PCR.

Komplikacje w prawidłowym przygotowaniu prób i przeprowadzeniu badania powodują, że technika PCR nie może być stosowana w każdym laboratorium diagnostycznym. Liczba jednorazowo przeprowadzanych prób jest też stosunkowo niewielka, a koszt badania znaczny. Istnieje także możliwość uzyskiwania pewnego odsetka wyników fałszywie dodatnich.

Najważniejszą rolę w diagnostyce paratuberkulozy odgrywają **testy serologiczne**, głównie ze względu na szybkość wykonania. Spośród metod serologicznych próbą zastosowaną najwcześniej był odczyn wiązania dopełniacza. Przez wiele lat OWD zyskał wielu zwolenników i był uznawany za jedyny test pozwalający wykryć zwierzę znajdujące się we wczesnym stadium choroby.

W ostatnich kilku dziesięcioleciach znaczny postęp w rozpoznawaniu paratuberkulozy była i owiec uzyskano po adaptacji do tego celu testu ELISA. Test ten jest uważany obecnie za najbardziej czuły i swoisty w wykrywaniu przeciwciał w surowicy zwierząt zakażonych *M. avium* subsp. *paratuberculosis*. Jest zalecany obecnie przez OIE do rozpoznawania choroby Johnego. ELISA jest testem szybkim i ekonomicznym, nadającym się do zastosowania na dużą skalę.

W testach sporządzanych przez różne laboratoria stosowane są różne antygeny, stąd trudności w porównaniu wyników testów uzyskanych w laboratoriach stosujących różne modyfikacje tego testu. Czułość ELISA jest często porównywana do czułości OWD, jednak test ten ma znacznie większą wartość w rozpoznawaniu wczesnych zakażeń bezobjawowych. Nawet w testach tego rodzaju, gdzie czułość waha się zwykle w granicach 60–90% mogą występować wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne. Brak reakcji może dotyczyć głównie zwierząt we wczesnym stadium zakażenia, zanim zostaną wytworzone swoiste, wiążące antygen przeciwciała, a także w stadium anergii oraz w wyniku utworzenia w przebiegu infekcji kompleksów immunologicznych skutecznie maskujących swoiste przeciwciała oraz antygen. Większość stosowanych

obecnie gotowych zestawów ELISA zawiera w swoim składzie także płyny do preabsorbpcji. Są to zawiesiny lub przesączka hodowli *Mycobacterium phlei* lub innych prątków szybko rosnących, a ich rola sprowadza się do wychwycenia z surowicy przeciwciał nieswoistych. Postępowanie to może jednak mieć wpływ na czułość całości badania. W ELISA, mimo zastosowania preabsorbpcji, możliwe jest uzyskanie pewnego odsetka wyników fałszywie dodatnich, spowodowanych krzyżowymi reakcjami z bakteriami rodzaju *Nocardia* i *Corynebacterium*.

We wczesnym stadium choroby lub w przypadkach subklinicznych w odpowiedzi immunologicznej dominuje odpowiedź typu komórkowego, której głównym nośnikiem są limfocyty T. W praktyce stosowane są dwa testy opierające się na odpowiedzi tego typu: śródskórny test joninowy (tuberkulinowy) oraz test γ -interferonowy. W obydwu testach do stymulacji odpowiedzi immunologicznej stosowana jest tuberkulina PPD ptasia lub jonina. Jonina jest odpowiednikiem tuberkuliny. Jest sporządzana analogicznie jak tuberkulina z przesączu hodowli odpowiedniego szczepu prątków Johnego i standaryzowana. Podobnie jak w przypadku badań w kierunku gruźlicy bydłowej podstawą testu jest określenie zgrubienia fałdu skóry w miejscu iniekcji, przed jej wykonaniem i po 72. godzinach. Zgrubienie fałdu rzędu 2–3 mm stanowi reakcję dodatnią i powinno nasuwać podejrzenie paratuberkulozy. Podejrzenie występowania choroby w stadzie możemy powziąć także po analizie wyników porównawczego testu tuberkulinowego, wykonywanego rutynowo w kierunku gruźlicy bydłowej. Wszelkiego rodzaju reakcje na tuberkulinę bydłową, niewyjaśnione bezpośrednim sąsiedztwem drobiu grzebiącego, winny nasuwać podejrzenie choroby Johnego. Próba tuberkulinowa sama w sobie nie jest testem doskonałym i może dawać wiele krzyżowych reakcji, stąd opieranie się na wynikach tego testu w diagnostyce paratuberkulozy nie jest właściwe. Antygen otrzymywany w wyniku zabicia płynnej hodowli prątków jest na tyle mało swoisty i subtelny, że istnieje prawdopodobieństwo uzyskania wyników fałszywie dodatnich, nie tylko wskutek kontaktu zwierząt z innymi prątkami, ale także drobnoustrojami *Nocardia* i *Corynebacterium*.



Znaczny postęp w diagnostyce paratuberkulozy stanowi zastosowanie testu γ -interferonowego. W przebiegu tego testu stymulowane mitogenami limfocyty T wytwarzają γ -interferon, którego poziom mierzy się na zasadach ELISA. Mitogenem w teście jest także tuberkulina PPD ptasia.

Niewielkie zastosowanie praktyczne w rozpoznawaniu paratuberkulozy posiadają inne testy: hemaglutynacji, zahamowania migracji leukocytów, ich stymulacji bądź transformacji, czy immunoperoksydazowy.

Próby leczenia i szczepień ochronnych

Leczenie zwierząt a szczególnie bydła nie jest praktykowane. Na świecie podejmowano próby leczenia cennych genetycznie osobników lub zwierząt w ogrodach zoologicznych. Zwykle do terapii stosowano streptomycynę lub kombinacje leków typowych dla terapii przeciwprątkowej u ludzi: isoniazyd, rifampicyna, etambutol czy pyrazymamid. Pomimo zastosowanej terapii zwykle nie udawało się doprowadzić do zupełnego wyleczenia, a konieczne dawki leków były często tak duże, że ich toksyczność uniemożliwiała skuteczną terapię. U leczonych osobników leczenie nie powodowało ograniczenia siewstwa zarazka z kałem.

Znacznie większe nadzieje w ograniczaniu infekcji wiązano z zastosowaniem szczepionek. Po raz pierwszy próby szczepień przeprowadzono już w 1926 roku, tuż po uznaniu choroby Johnego za odrębną jednostkę chorobową, wywołowaną wyodrębnionym i zidentyfikowanym drobnoustrojem. Początkowo było to podskórne podawanie żywych, nieatenuowanych prątków.

W kolejnych latach próby szczepień dotyczyły głównie małych przeżuwaczy, a miejscem iniekcji była zwykle okolica mostka. Stosowano różnego rodzaju szczepionki: żywe, nieatenuowane, atenuowane, inaktywowane, a także opierające się na określonych fragmentach komórek bakteryjnych różnych szczepów *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Szczepionki podawano zarówno z adiuwantem, jak i bez niego, w różnych kombinacjach. Zdania na temat ich skuteczności są podzielone. W opinii jednych szczepienia są najlepszą metodą sprawowania kontroli nad infekcją, szczegól-

nie w stadach owiec. Inni skłaniają się do poglądu, że szczepienia nie mogą stanowić podstawy zahamowania rozprzestrzeniania się choroby. Liczne badania, polegające na szczepieniu zwierząt w różnym wieku i w różnych stadiach infekcji dowiodły, że stosowanie szczepień ochronnych może w pewnym stopniu ograniczyć występowanie klinicznych przypadków choroby i łagodź jej przebieg. Samo szczepienie nie chroniło jednak zwierząt przed zakażeniem, a u osobników w zaawansowanym stadium nie zapobiegało siewstwu zarazka z kałem.

Przeciwnicy stosowania szczepień ochronnych przeciwko paratuberkulozie, podnoszą fakt, że szczepienia powodują reaktywność poddanych im zwierząt zarówno w testach serologicznych, jak i w testach tuberkulinowych prowadzonych rutynowo w kierunku gruźlicy bydłowej, a także możliwość przeniknięcia prątków użytych do szczepień do łańcucha pokarmowego człowieka razem z mięsem i innymi produktami spożywczymi pochodzącymi od zwierząt. Doświadczenia wyniesione ze szczepień ochronnych ludzi przeciw gruźlicy wskazują, że w przypadku prątków istnienie odporności poszczepiennej wiąże się z bytowaniem żywych prątków w organizmie i koniecznością okresowego doszczepiania. Biorąc pod uwagę wspomnianą możliwość transmisji na człowieka i przede wszystkim ochronę zdrowia ludzi, stosowanie szczepionek żywych (pomimo ich ewentualnej skuteczności) nie wydaje się być trafne.

Zastosowanie testu tuberkulinizacji porównawczej pozwala w pewnym stopniu odróżnić reakcje wywołane kontaktem z prątkiem bydłowym od tych spowodowanych szczepieniem, jednakże zastosowanie szczepionek w państwach o statusie kraju wolnego od gruźlicy wydaje się być ryzykowne. Niebezpieczeństwo wyników fałszywie dodatnich ogranicza zastosowanie szczepień przeciwko paratuberkulozie do obszarów i państw, gdzie gruźlica występuje endemicznie (niektóre państwa Ameryki Południowej i Środkowej oraz Afryki).

Programy zwalczania choroby i certyfikacji stad

Zwalczanie paratuberkulozy jest trudne ze względu na długi okres inkubacji choroby (od kil-



ku miesięcy do kilku lat) oraz brak wystarczająco czułych i swoistych metod rozpoznawania choroby w jej wczesnym stadium. Diagnostyka jest tym bardziej trudna, gdyż u części zwierząt zakażonych nie rozwija się kliniczna postać choroby, a zwierzę wraz z kałem wydala do środowiska duże ilości prątków zanieczyszczając zarazkami najbliższe otoczenie. Na infekcję i rozwój choroby najbardziej są narażone zwierzęta młode, bezpośrednio kontaktujące się z chorymi matkami lub innymi nosicielami w tym samym stadzie. Starsze krowy mogą być bezobjawowymi nosicielami zarazka przez wiele lat, nieznacznie tylko zmniejszając swoją wydajność mleczną.

Biorąc pod uwagę straty ekonomiczne związane z paratuberkulozą i potencjalne niebezpieczeństwo dla ludzi, podejmowane są próby tworzenia programów zwalczania choroby i tzw. certyfikacji stad. Zwalczanie paratuberkulozy, zarówno w stadach małych przeżuwaczy jak i bydła, jest niezmiernie trudne ze względu na charakter choroby i oporność zarazka na środki dezynfekcyjne i czynniki środowiska zewnętrznego. Niektóre państwa w zwalczaniu choroby owiec i kóz posiłkują się programami szczepień w szerokim zakresie (Grecja, Hiszpania, Islandia, Australia), inne, np. Holandia, stosują je tylko w części stad. Generalnie można stwierdzić, że zwalczanie paratuberkulozy w stadzie każdego gatunku zwierząt wymaga jednoczesnego zastosowania reżimu sanitarnego w kombinacji z dostępnymi testami diagnostycznymi, zastosowanymi w odpowiednim czasie. Głównym założeniem każdego programu zwalczania powinno być z jednej strony zapobieganie rozprzestrzenianiu się choroby w obrębie stada, z drugiej zaś zapobieganie przeniesieniu się infekcji do innych stad i obiektów. Dla zahamowania szerzenia się paratuberkulozy w obrębie stada najważniejsze jest odpowiednie postępowanie z cielętami i brak kontaktów ze zwierzętami starszymi. Z kolei odpowiednia izolacja stad zakażonych i brak kontaktu ze zwierzętami zdrowymi umożliwia zahamowanie transmisji zarazka i zakażenia kolejnych stad.

Podstawowe założenia programów zwalczania choroby sprowadzają się do następujących działań:

- systematyczne, przesiewowe badania serologiczne całego stada, w tym głównie zwierząt

24-miesięcznych i starszych, odpowiedzialnych za ewentualne siewstwo zarazka z kałem,

- regularne oczyszczanie obiektu z kału, nieużywanie nawozu zwierząt zakażonych do użyźniania pól lub przekazywania do innych gospodarstw – przeznaczanie tylko do biotermicznego odkażania,
 - osobny odchów cieląt i młodzięży do 12 m-cy, oddzielanie cieląt od matek uznanych za zakażone,
 - izolacja w stadzie zwierząt uznanych za prawdopodobnie zakażone na podstawie co najmniej dwukrotnych badań serologicznych,
 - badanie bakteriologiczne kału od zwierząt izolowanych w celu potwierdzenia istnienia infekcji,
 - eliminacja zwierząt uznanych za siewców zarazka z kałem,
 - zużycie mleka od zwierząt podejrzanych o infekcję lub z potwierdzoną chorobą we własnym gospodarstwie,
 - ograniczenie dostępu osób obcych,
 - okresowa, profilaktyczna dezynfekcja obiektu.
- Podkreślić należy, że rezultaty przynosi tylko bardzo rygorystyczne przestrzeganie powyższych zasad. W zainfekowanych stadach powinny być stosowane środki dezynfekcyjne zalecane w ogniskach gruźlicy bydłowej, znajdujące się w aktualnym wykazie preparatów dezynfekcyjnych zarejestrowanych do użytku weterynaryjnego (kategoria I, grupa 3 preparatów).

Rozprzestrzenienie choroby na świecie

Dwa lata po opisaniu paratuberkulozy jako odrębnej jednostki chorobowej, już w 1908 r. Leonard Person opisał przypadki choroby Johnego w USA. W kolejnych latach badacze na całym świecie potwierdzali istnienie ognisk choroby. Dokładne dane nie są możliwe do uzyskania, gdyż w wielu przypadkach choroba nie jest prawidłowo diagnozowana, a zwierzęta są często likwidowane bez określania dokładnych przyczyn wychudzenia czy znacznego spadku mleczności. W latach 30. we Francji stwierdzono, że zmiany anatomopatologiczne wskazujące na istnienie choroby były obecne u 0,8% zabiłanych zwierząt. Wyniki badań z lat 50. w Anglii wskazywały, że paratuberkuloza była notowana



u 11-17,6% zwierząt. Badania przeprowadzone w latach 60. w Danii potwierdzały istnienie choroby u 2,3% krów rzeźnych.

Wraz z rozwojem metod diagnostycznych w badaniach wykorzystywano coraz częściej testy serologiczne, a głównie zwykły i preabsorbowany test ELISA. Badania serologiczne przeprowadzone w latach 80. w USA stwierdziły, że swoiste przeciwciała były notowane u 2,9% populacji krów. Dane uzyskiwane w kolejnych latach w państwach europejskich były bardziej alarmujące szczególnie, jeżeli chodzi o odsetek zainfekowanych stad. W kraju Basków stwierdzono istnienie infekcji w 67% stad bydła, zaś w Belgii i Holandii seropozytywne okazało się odpowiednio 17,4% i 54,7% stad. Odsetek infekcji u zwierząt indywidualnych określono na 1,2-2,5%. Różnice w wynikach przedstawionych badań są w znacznej mierze spowodowane zróżnicowaniem czułości i swoistości testów użytych w badaniach, a także strukturą hodowli. Mniej wyników dodatnich lub wątpliwych stwierdzano w hodowli bydła mięsnego i opasów, zaś znacznie wyższy odsetek w stadach bydła mlecznego, szczególnie w tych złożonych ze starszych zwierząt. W badaniach przeprowadzonych we Włoszech uzyskane wyniki były znacznie wyższe. Spośród niemal 40 000 zbadanych zwierząt istnienie choroby potwierdzono aż w 43,7% stad i 2,6% całej populacji krów. Badania wykonane w Indiach dały 15,6% wyników dodatnich w populacji krów, zaś w Meksyku 8,6%. Znaczny odsetek bydła chorego w państwach o gorącym klimacie przyczynił się do niedawna wyrażanemu poglądowi, że do wystąpienia choroby usposabia klimat wilgotny i chłodny.

Badania prowadzono także w populacji innych gatunków zwierząt domowych. W Portugalii u owiec stwierdzono testami PCR obecność materiału genetycznego zarazki u 18,7% zwierząt podejrzanych. Zastanawia jednak fakt, że większy odsetek (20%) wyników dodatnich uzyskano w grupie owiec uznanych za zdrowe. Potwierdza to znaczną trudność w klinicznym rozpoznawaniu choroby szczególnie u małych przeżuwaczy. Oprócz hodowlanych zwierząt domowych, choroba stwierdzana jest także u licznych gatunków zwierząt dzikich, będących przeżuwaczami (jelenie, sarny, muflony, koziorożce alpejskie), innych zwierząt dzikich (lisy, zające, myszy), a

nawet u ptaków (głuszce). Występowanie prątka Johnego w USA notowano m.in. u szopów praczy, oposów, kotów i pancerników. Badania w Szkocji dowiodły pierwotnego występowania paratuberkulozy u bydła, a następnie w populacji dzikich królików występujących na tym samym terenie. U badanych zwierząt nie stwierdzano żadnych zmian patologicznych, ale badania laboratoryjne wykazały występowanie prątka Johnego u 39,7% i 23,0% królików, zależnie od miejsca odłowienia. Chorobę stwierdzano także u zwierząt utrzymywanych w ogrodach zoologicznych.

W Polsce począwszy od lat 70. ogniska choroby notowano w północno-zachodnich regionach kraju. Obecnie, wraz ze zwiększeniem międzynarodowego handlu zwierzętami, paratuberkuloza stwierdzana jest w wielu stadach bydła mlecznego w różnych regionach kraju. Badania własne wskazują, że dodatnie wyniki testów serologicznych uzyskuje się u około 3% krów hodowlanych. Ogniska choroby stwierdzano także u jeleni hodowlanych. Podobnie jak na całym świecie wiele przypadków choroby nie jest prawidłowo rozpoznawanych i ewidencjonowanych. Zwierzęta usuwane są z hodowli z powodu postępującego wychudzenia lub obniżonej mleczności bez wnikania w rzeczywistą przyczynę tego zjawiska. Istotne zwiększenie

Paratuberkuloza stwierdzana jest w wielu stadach bydła mlecznego w różnych regionach Polski. Badania własne wskazują, że dodatnie wyniki testów serologicznych uzyskuje się u około 3% krów hodowlanych. Podobnie jak na całym świecie wiele przypadków choroby nie jest prawidłowo rozpoznawanych i ewidencjonowanych. Zwierzęta usuwane są z hodowli z powodu postępującego wychudzenia lub obniżonej mleczności bez wnikania w rzeczywistą przyczynę tego zjawiska.



liczby ognisk choroby notuje się szczególnie od momentu uznawania wyników badań w kierunku paratuberkulozy u zwierząt importowanych z innych krajów Unii Europejskiej. Wcześniej prowadzono własne badania serologiczne surowic pochodzących od bydła importowanego, co pozwalało na wychwycenie zwierząt seropozytywnych.

Paratuberkuloza bydła w świetle obowiązujących przepisów

Zgodnie z Ustawą z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, z późn. zmianami, paratuberkuloza znajduje się w wykazie chorób podlegających obowiązkowi rejestracji. Każdy przypadek choroby, potwierdzony co najmniej dwukrotnymi wynikami dodatnimi w teście serologicznym, dodatnimi wynikami hodowlanymi z kału lub wynikami badań anatomopatologicznych z potwierdzeniem badaniami mikroskopowymi, powinien być zgłaszany do odpowiedniego powiatowego lekarza weterynarii. Choroba nie jest zwalczana z urzędu jak np. gruźlica bydłęca, a koszt badań diagnostycznych, eliminacji zwierzęcia ze stada oraz ewentualnie mleka od zwierząt chorych – ponosi hodowca. W prowadzaniu brak jest regulacji dotyczących postępowania z mięsem od zwierząt chorych. Stosowane są tylko ogólne zasady oceny dotyczące pochodzenia mięsa od zwierząt wychudzonych, będących w złej kondycji. Specjalnym regulacjom prawnym nie podlega także mleko pochodzące od zwierząt uznanych za zakażone, chociaż w świetle informacji dotyczących możliwej roli prątka paratuberkulozy w wywoływaniu choroby Crohna u ludzi, mleko takie winno podlegać restrykcjom podobnym jak w przypadku gruźlicy bydłęcej.

Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Środowiska z dnia 29 listopada 2002 r., w sprawie listy organizmów patogennych oraz ich klasyfikacji, a także środków niezbędnych dla poszczególnych stopni hermetyczności, *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* zostało zaliczone do grupy II mikroorganizmów mogących wywołać choroby człowieka i stanowić dla niego zagrożenie, jednakże mało prawdopodobne jest rozprzestrzenienie się tej choroby w populacji

ludzkiej i dostępna jest skuteczna profilaktyka i terapia. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 21 października 2004 r. w sprawie wykazu laboratoriów referencyjnych właściwych dla poszczególnych rodzajów i kierunków badań ustala, że laboratorium właściwym, referencyjnym dla badania w kierunku paratuberkulozy jest Zakład Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach.

Kontakt człowieka z prątkiem Johnego

Zwierzęta w klinicznym stadium choroby wydają z kałem do środowiska prątki. Prątki Johnego wykazują, podobnie jak większość innych gatunków prątków, dużą oporność na czynniki środowiskowe oraz środki dezynfekcyjne. W środowisku zewnętrznym prątek paratuberkulozy może bytować przez szereg miesięcy, a nawet lat w stanie zdolnym do wywołania infekcji. Badania dowiodły, że w sztucznie sporządzonym biofilmie, na różnego rodzaju powierzchniach spotykanych w praktyce hodowlanej, komórki prątka Johnego wykrywano pod koniec rocznego okresu badań, a ich liczebność nie zmniejszała się istotnie wraz z upływem czasu. Bezpośredni kontakt człowieka z zakażonymi zwierzętami lub ich bezpośrednim otoczeniem zanieczyszczonym kałem skutkuje zwykle zakażeniem. Na zakażenie narażeni są szczególnie przedstawiciele zawodów związanych z hodowlą i leczeniem zwierząt: farmerzy, pracownicy rzeźni czy lekarze weterynarii. W praktyce nie zaobserwowano jednak istotnego wzrostu zachorowań wywołanych prątkiem Johnego w tych grupach zawodowych. Podobnie jak w przypadku zakażenia klasyczną gruźlicą i *Mycobacterium tuberculosis*, nosicielami prątków jest znaczny odsetek populacji. U większości choroba nie rozwija się nigdy, jednakże u pewnego odsetka, dodatkowo po zadziałaniu czynników usposabiających, należy się spodziewać rozwoju choroby. Główną rolę odgrywa tu wrodzony lub nabyty brak odporności. Stwierdzono m.in., że do choroby dochodzi częściej u ludzi, którzy w wieku niemowlęcym nie byli karmieni piersią lub tylko przez krótki okres. Wyniki powyższych badań świadczą, jak wielkie niebezpieczeństwo dla konsumenta tkwi w niedostatecznie przetworzonych produktach



pochodzących od zwierząt, skażonych prątkami Johnego. Dotyczy to szczególnie chorych z AIDS i osób przyjmujących leki immunosupresyjne, np. w przebiegu choroby nowotworowej.

Choroba Crohna u ludzi

W niedługim czasie po wyodrębnieniu paratuberkulozy u przeżuwaczy lekarze medycyny zwrócili uwagę na podobieństwo występującego u ludzi stanu zapalnego jelit. Po raz pierwszy choroba została opisana w 1904 roku przez polskiego lekarza Antoniego Leśniowskiego, stąd często używana w polskim piśmiennictwie nazwa – choroba Leśniowskiego–Crohna. Zbliżony opis choroby jelit przytoczył także Dalziel w 1913 r. w Szkocji. Dokładny opis choroby podali w 1932 roku lekarze Crohn, Ginsburg i Oppenheimer w USA, stąd obecna nazwa – choroba Crohna. Opisy choroby nie do końca wyjaśniają jej etiologię. Jako przyczynę choroby podejrzewano szereg czynników bakteryjnych, wirusów, a także pierwotniaków. Coraz więcej badaczy skłania się jednak ku pogładowi, że jednym z czynników niezbędnych do rozwoju choroby jest obecność *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Drobnoustrój ten jest wyodrębniany w wielu przypadkach z kału i prób tkankowych pochodzących od ludzi dotkniętych chorobą Crohna. Choroba Crohna cechuje się wybitnie przewlekłym stanem zapalnym błony śluzowej i podśluzowej jelit. Zaczyna się zwykle w wieku 15–30 lat, z ponownym, drugim szczytem w wieku 50–70 lat. Choroba Crohna jest schorzeniem rodzinnym i w przypadku choroby jednego z jej członków istnieje niezwykle duże prawdopodobieństwo rozwoju choroby u pozostałych osób. Obecnie uważa się, że do wystąpienia choroby niezbędna jest także genetyczna predyspozycja wynikająca z mutacji jednego z genów znajdującego się w 16. parze chromosomów. Chorobę wiąże się także z defektem immunologicznym monocytów.

Zmiany anatomopatologiczne mogą dotyczyć każdego odcinka przewodu pokarmowego. Sporadycznie zmiany chorobowe stwierdzano w przetyku, żołądku i dwunastnicy, jednak najczęściej występują one w jelicie krętym i okrężnicy (ok. 60% przypadków) i w samej okrężnicy (30%) przypadków. Istotne w rozpoznawaniu

choroby Crohna jest różnicowanie od typowego, wrzodziejącego zapalenia jelit.

Epidemiologia choroby Crohna

Przegląd dostępnej literatury na temat choroby Crohna sugeruje, że występuje ona znacznie częściej w Europie zachodniej i północnej niż w innych częściach starego kontynentu, Azji i Afryce. W populacjach żyjących na terenach mało zurbanizowanych, pomimo większego kontaktu z prątkami znajdującymi się w środowisku, rozprzestrzenienie choroby jest stosunkowo małe. Zwiększone występowanie i rozwój choroby Crohna po przeniesieniu się tych ludzi do uprzemysłowionych regionów świata sugeruje duży wpływ czynników środowiskowych na rozwój choroby.

Kompleksowe badania przeprowadzone w różnych krajach europejskich dowiodły, że nasilenie występowania choroby jest o 80% wyższe w Europie północnej i zachodniej (Norwegia, Holandia) niż w południowej (Grecja). Grupą wiekową najbardziej zagrożoną wystąpieniem choroby jest młodzież w wieku 15–25 lat. Nie zaobserwowano wpływu płci, jak również spożycia tytoniu na występowanie choroby.

Badania epidemiologiczne wykonane w USA dały zbliżone wyniki. W populacjach północnej Kanady stwierdzono np. współczynnik 14,6% przypadków na 100 000 rocznie, zaś im dalej na południe, tym współczynnik obniżał się aż do 7,0 przypadków w stanach południowych Kanady. Świadczy to jednoznacznie o wpływie klimatu, czynników środowiskowych i nawyków żywieniowych na występowanie choroby.

Badania wykonane w Europie sugerują, że współczynnik występowania choroby w części północnej kontynentu osiągnął już swoje maksimum i ulega systematycznemu obniżaniu, zaś w regionach południowych notuje się dalszy jego wzrost. Z jednej strony może to świadczyć o stosowaniu coraz bardziej czułych metod diagnostycznych i postępie w profilaktyce choroby, z drugiej zaś o wzmocnionym uprzemysłowieniu i urbanizacji społeczeństw w Europie południowej.

W szeregu badań próbowano odpowiedzieć na pytanie, czy istnieje związek pomiędzy geograficznym występowaniem przypadków paratuberkulozy u bydła, owiec i kóz a występowaniem



przypadków choroby Crohna? Określenie ścisłej współzależności występowania obu jednostek chorobowych jest praktycznie niemożliwe. Dzieje się tak głównie ze względu na brak wystarczających danych na temat rozprzestrzenienia choroby na niektórych obszarach. Z jednej strony zwierzęta w intensywnej hodowli państw wysoko uprzemysłowionych badane są często i regularnie, z drugiej zaś wiele regionów nie ma potrzebnych podstawowych danych epidemiologicznych. Przeszkodą w określeniu związku jest także długi okres inkubacji. Zakładając wyłączny udział lub współudział prątki paratuberkulozy w wywoływaniu choroby Crohna można domniemywać, że podobnie jak przy paratuberkulozie bydła, kontakt człowieka z zarazkiem musiałby nastąpić o wiele wcześniej niż wystąpiły objawy choroby.

Podsumowanie: paratuberkuloza powoduje znaczne straty ekonomiczne, głównie w hodowli bydła. Są one spowodowane zasadniczo spadkiem młeczności, spadkiem masy ciała, słabym wykorzystaniem pokarmu, kosztami związanymi z koniecznością badania i likwidacji zwierząt uznanych za podejrzane lub chore oraz kosztami prowadzenia regularnych badań rozpoznawczych i utrzymania odpowiedniego stanu sanitarnego (sanityzacja, koszt środków dezynfekcyjnych). Stwierdzono także, że istnienie choroby predysponuje do występowania innych schorzeń, np. zapaleń gruczołu mlekowego czy niepłodności u krów. Stada dotknięte paratuberkulozą podlegają znacznym ograniczeniom w sprzedaży i przemieszczaniu zwierząt. Straty powstałe z tego powodu w hodowli bydła w Europie ocenia się na około 200-500 € na jedno chore zwierzę, zaś roczne straty w Stanach Zjednoczonych Ameryki na 200-250 mln. dolarów. Na podstawie aktualnego stanu wiedzy można wnioskować, że:

- *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* jest czynnikiem wywołującym paratuberkulozę (chorobę Johnego) u przeżuwaczy domowych i dzikich.
- Choroba może występować u wielu innych, nieprzeżuwających gatunków zwierząt. Zwierzęta dzikie mogą stanowić rezerwuary choroby.
- Paratuberkuloza występuje na całym świecie, bez zróżnicowania geograficznego.
- *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* może występować u zwierząt niewykazujących klinicznych objawów choroby. Bezobjawowe nosicielstwo może trwać nawet wiele lat.
- Zakażenie ma zwykle miejsce u zwierząt młodych, najbardziej wrażliwych, a źródłem zakażenia są chore matki.
- Głównym miejscem lokalizacji choroby w organizmie zwierzęcia jest błona śluzowa i podśluzowa jelit, jednakże prątki mogą być obecne w innych organach wewnętrznych, węzłach chłonnych, a także w mięśniach.
- Zwierzęta w klinicznym stadium choroby są zwykle intensywnymi siewcami zarazka z kałem, co powoduje długotrwałe zanieczyszczenie otoczenia.
- Prątek Johnego wykazuje znaczną oporność na czynniki środowiska zewnętrznego, środki dezynfekcyjne i leki. W środowisku może przebywać bardzo długo w stanie zdolnym do wywołania infekcji.
- Standardowa pasteryzacja może być niewystarczająca do zabicia komórek *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* znajdujących się w mleku.
- W Polsce choroba podlega obowiązkowi zgłaszania. Nie stosuje się szczepień ochronnych ani leczenia.
- Rozpoznawanie opiera się na analizie wyników porównawczego testu tuberkulinowego, badaniach serologicznych (ELISA) i stwierdzeniu czynnika zakaźnego lub charakterystycznych fragmentów jego DNA w kale.
- Choroba Crohna wykazuje podobieństwo zmian anatomopatologicznych i obrazu klinicznego do paratuberkulozy bydła.
- Prątek Johnego stwierdzano w zmianach anatomopatologicznych u znacznego odsetka chorych na chorobę Crohna, ale także u osób zdrowych.
- Do wystąpienia choroby Crohna, oprócz czynnika zakaźnego, przyczyniają się także usposobienie genetyczne, nawyki żywieniowe i czynniki środowiskowe.
- Dane na temat paratuberkulozy bydła i choroby Crohna są niewystarczające do stwierdzenia ścisłego związku terytorialnego występowania obu jednostek chorobowych. 

aktualne wydanie



temat z okładki

Strategia zwalczania mastitis na tle zakażenia gronkowcem złocistym
opis przypadku

Marcin Klich
prywatna praktyka weterynaryjna

Gronkowiec złocisty stanowi ważny problem ekonomiczny a także terapeutyczny. Niniejsze opracowanie przedstawia strategię ograniczenia występowania S. aureus w jednym ze stad bydła mlecznego.

W 2019 r. objęto programem zwalczania gronkowca złocistego stado około 1400 krów rasy holstejnsko-fryzyskiej o średniej wydajności 11 500 kg mleka/rok. Krowy w laktacji znajdowały się w dwóch budynkach z bliskim dostępem do instalacji udojowej; grupa krów zasuszonych mieściła się w budynku wspólnym dla tej grupy i jałówek cielnych. Grupy close up, „porodówka” i fresh zajmowały budynek z najbliższym dostępem do hali udojowej. Stado znajdowało się w budynku o wysokim standardzie dobrostanu dzięki m.in.: wentylacji powietrza (wysokość kalenicy 13 m – typu otwartego, otwierane kurtyny stanowiące całość ścian bocznych budynków), ochronie przed zbytnim nagrzewaniem się budynku (płyta warstwowa), swobodnemu dostępowi do wody (12 cm tafla wody/zwierzę), żywieniu opartemu na TMR w zależności od zapotrzebowania danej grupy, legowiskom zaścienianym separatem gnojowicy (s.m. 33-35%) mieszanym z węglanem wapnia 2-3 x w tygodniu; w grupach przejściowych zaścienianych siomą. Udój odbywał się w odstępach 12-godzinnych na karuzeli udojowej, wyposażonej dodatkowo w możliwość stymulacji doju oraz dezynfekcji wewnętrznej pomiędzy każdym dojem.

filmy "Leczniczy Dużych Zwierząt"



Biegunka poodsadzeniowa prosiąt. Jak sobie z nią radzić bez tlenu cynku i antybiotyków?

Głównym problemem zdrowotnym prosiąt, występującym w krótkim czasie po odłączeniu ich od matki, jest tzw. biegunka poodsadzeniowa (ang. post-weaning diarrhea – PWD), która występuje w ciągu pierwszych 14. dni po odsadzeniu.

Arkadiusz Dors, Ewelina Czyżewska-Dors



Przepukliny u trzody chlewnej. Wpływ na produktywność i ekonomię tuczu.

Przepukliny w hodowli trzody chlewnej występowały od zawsze. Autorzy artykułu na jednej z ferm przeanalizowali skalę tego problemu i ocenili skuteczność zabiegu repozycji przepukliny, jego wpływ na dobrostan zwierząt oraz finanse fermy.

lek. wet. Maciej Frelich, lek. wet. Paulina Gawin



Niepowodzenia szczepień u świń. Wpływ wybranych czynników na efektywność immunoprofilaktyki swoistej (cz. I.)

Szczepionki w wielu przypadkach skutecznie chronią świnię przed zakażeniem różnymi patogenami lub przed niepożądanymi skutkami infekcji. Czasami jednak mogą okazać się mniej skuteczne niż oczekiwano lub nawet całkowicie nieskuteczne.

Małgorzata Pomorska-Mól, Agata Augustyniak

czytaj
na papierze
albo
w komputerze

Nazwa	Comforion
Skład	Ketoprofen 100 mg/ml
Postać, gatunek,	roztwór do wstrzykiwań dla koni, bydła i świń
Wskazania:	Koń: działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe w zaburzeniach mięśniowo-szkieletowych. Łagodzenie bólu trzewnego towarzyszącego kolce. Bydło: działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe w zaburzeniach gruczołowych. W połączeniu z antybiotykoterapią obniżanie gorączki towarzyszącej chorobom układu oddechowego. Świnie: obniżenie gorączki w chorobach dróg oddechowych. W połączeniu z antybiotykoterapią leczenie wspomagające zespołu bezmleczności poporodowej PDS (zespołu MMA).
Przeciwwskazania:	Nie stosować w przypadkach nadwrażliwości na substancję czynną lub na dowolną substancję pomocniczą. Nie stosować w przypadku ciężkiej niewydolności wątroby, nerek lub serca, owrzodzeń przewodu pokarmowego, silnych krwawień lub obecności dyskrazji krwi.
Działania niepożądane:	Podrażnienie w miejscu wstrzyknięcia. Zaburzenia przewodów pokarmowych; podrażnienie żołądka, wrzód żołądka, wrzód jelita cienkiego. Zaburzenia nerek i dróg moczowych: nietolerancja ze strony nerek
Dawkowanie, droga i sposób podania:	Koń: dawka 2,2 mg ketoprofenu/kg masy ciała/dobę podawana dożylnie, np. 11 ml/500 kg/dobę podane dożylnie, maksymalnie przez 3 dni. Bydło: dawka 3 mg ketoprofenu/kg masy ciała/dobę podawana dożylnie lub domięśniowo, np. 3 ml/100 kg/dobę podane dożylnie lub głęboko domięśniowo, maksymalnie przez 3 dni. Świnie: dawka 3 mg ketoprofenu/kg masy ciała/dobę podawana domięśniowo, np. 3 ml/100 kg/dobę podane domięśniowo, maksymalnie przez 3 dni.
Ostrzeżenia i środki ostrożności:	Ostrzeżenia: Unikać wstrzyknięć dotętnicznych. Nie przekraczać zalecanej dawki, ani okresu leczenia. Stosować ostrożnie u zwierząt odwodnionych lub z niedociśnieniem. W przypadku kolki kolejną dawkę można podać wyłącznie po dokładnym ponownym badaniu. Nie zaleca się stosowania ketoprofenu u źrebiąt poniżej 15 dni życia. Stosowanie u jakiegokolwiek zwierzęcia w wieku poniżej 6 tygodni życia lub u zwierząt starych może wiązać się z dodatkowym ryzykiem. Jeśli nie można uniknąć takiego stosowania, zwierzęta mogą wymagać zmniejszenia dawki i ostrożnego leczenia. Unikać rozpryskania na skórę lub oczy. Umyć ręce po podaniu produktu. Jeśli nastąpi przypadkowy kontakt ze skórą lub oczami, dokładnie przepłukać wodą. Po przypadkowej samoiniekcji, należy niezwłocznie zwrócić się o pomoc lekarską oraz przedstawić lekarzowi ulotkę informacyjną lub opakowanie.
Karencja: (jeżeli dotyczy)	Karencja: Tkanki jadalne: 4 dni, mleko: 0 dni.
Okres trwałości	Trwałość: 3 lata; po otwarciu użyć w przeciągu 28 dni.
Opakowanie:	Opakowanie: szklana fiolka pojemności 100 ml (10 x 100 ml).
Podmiot odpowiedzialny:	Podmiot odpowiedzialny: Orion Corporation
Numer pozwolenia i nazwa organu: (kategoria dostępności)	Pozwolenie URPLWMIpB nr: 1852/08. Wydawany z przepisu lekarza – Rp. Wydawany na receptę weterynaryjną.
	Przed użyciem należy zapoznać się z treścią ulotki dołączonej do opakowania.

rada programowa:

prof. dr hab. Dariusz Bednarek
 dr Michał Bednarski
 dr hab. Marek Gehrke, prof. UMK
 dr Artur Jabłoński
 prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski
 prof. dr hab. Maciej Z. Kowalski
 prof. dr hab. Robert Kupczyński
 dr hab. Magdalena Larska, prof. PIW – PIB
 prof. dr hab. Iwona Markowska-Daniel
 prof. dr hab. Zygmunt Pejsak
 prof. dr hab. Małgorzata Pomorska-Mól
 prof. dr hab. Tomasz Stadejek
 dr hab. Kazimierz Tarasiuk, prof. UR
 prof. dr hab. Jan Twardoń
 dr. hab. Katarzyna Żarczyńska, prof. UWM

redaktor naczelny:

Michał Bednarski
 e-mail: michal.bednarski@wetpress.pl
 tel. 880 645 805

zastępca redaktora naczelnego:

Alicja Milanowska
 e-mail: lecznica@wetpress.pl
 tel. 602 582 401

reklamy i promocji:

Dorota Pejsak
 tel. 784 312 333
 e-mail: dorota.pejsak@wetpress.pl

dział prenumeraty:

tel. 52 584 17 47, 52 584 17 57

warunki prenumeraty:

cena detaliczna (1 egz.): 35 zł
 koszt prenumeraty rocznej: 119 zł

nr konta:

37 1050 1139 1000 0023 0510 5690

wydawca:

wetpress s.c.
 ul. Smoleńska 26,
 80-058 Gdańsk

DPT i druk: APRA sp. z o.o.
 nakład: 1 800

redakcja nie ponosi odpowiedzialności za treść reklam, teksty promocyjno-reklamowe podpisane są literą (R) lub zawierają logo firmy

nowość na rynku księgarskim



blisko 280 zdjęć
zmian sekcyjnych
z komentarzami

format: 190 mm x 265 mm

wydawca: wetpress s.c.

cena: 139,00 PLN

książka do kupienia podczas tegorocznych konferencji (w Puławach, Krakowie, Polanicy i Pawłowicach)
na stoisku „Lecznicy dużych zwierząt” lub na stronie: www.lecznica-online.pl