

RAPORT IDF O STANIE ZDROWIA ZWIERZĄT

Wydanie nr 12 – wrzesień 2018 r

(Wybrane artykuły)

*Uwaga krajowa: tłumaczenie na język polski zostało sfinansowane ze środków
FUNDUSZU PROMOCJI MLEKA*

PRZEDMOWA

DYREKTORA GENERALNEGO MIĘDZYNARODOWEJ FEDERACJI MLECZARSKIEJ

Niniejszy Raport Międzynarodowej Federacji Mleczarskiej (IDF) o Stanie Zdrowia Zwierząt obejmuje 24 artykuły, w których dokonano krótkiego omówienia interesujących tematów oraz aktualnych zagadnień i bieżących badań z zakresie opieki nad zwierzętami, oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe i gospodarskich praktyk rolniczych. Niniejszy raport oferuje osobom zaangażowanym w prace w omawianych sektorach możliwość przedstawienia swoich osiągnięć poprzez innowacyjne badania i zapewnienie uaktualnionych danych na temat osiągniętego postępu i wyciągnięcie stosownych wniosków.

Praca IDF w zakresie zdrowia i dobrostanu zwierząt idzie w parze z wkładem organizacji międzynarodowych (Światowa Organizacja Zdrowia – WHO, Organizacja Narodów Zjednoczonych ds Wyżywienia i Rolnictwa – FAO, Światowa Organizacja do Spraw Zdrowia Zwierząt i Kodeksu - OIE) interesariuszy i konsumentów. Zdrowe i wydajne zwierzęta produkujące mleko mogą wnieść swój wkład do zapewnienia dostawy bezpiecznych, wystarczających ilości odżywczych produktów spożywczych w czasach szybko rosnącej populacji światowej.

Pragniemy podziękować autorom, którzy przyczynili się do nadania wartości niniejszemu raportowi naukowemu poprzez wnikliwe spostrzeżenia i analizy.

Życzę Państwu ciekawej lektury.

Caroline Edmond

Dyrektor Generalny IDF

PRZEDMOWA

STAŁEGO KOMITETU IDF DS. ZDROWIA I DOBROSTANU ZWIERZĄT

Celem naszego raportu jest poinformowanie pracowników branży mleczarskiej o nowych osiągnięciach dotyczących zdrowia i dobrostanu zwierząt oraz konsekwencji w zapobieganiu chorobom zwierząt, poprzez rozważanie aspektów związanych z gospodarką rolną, bezpieczeństwem żywności, zdrowiem człowieka i technologią mleczarską.

Dzięki ekspertyzom członków naszego Komitetu, został znowelizowany Poradnik IDF dotyczący Zapewnienia Dobrostanu Zwierząt w Produkcji Mleczarskiej, aby był zgodny z najnowszymi normami OIE oraz ISO TS 34700; zostanie on wkrótce opublikowany. Poradnik międzynarodowy na niniejszy temat jest istotny, nie tylko po to, aby edukować i informować czytelników o istniejących środkach dla zachowania zdrowia i dobrostanu zwierząt, ale także służy jako praktyczny przewodnik mający na celu ułatwienie ciągłego doskonalenia dobrostanu zwierząt oraz bezpiecznego i uczciwego handlu międzynarodowego, ponieważ zgodność z międzynarodowymi normami może ułatwić uczciwy handel transgraniczny i pozwoli na uniknięcie niepotrzebnych barier technicznych.

Dbanie o dobry stan zdrowia zwierząt jest siłą napędową, która może pomóc w obniżeniu potrzeby stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych. Zdrowe zwierzęta nie potrzebują stosowania antybiotyków. Rozsądne stosowanie antybiotyków i zmniejszenie do minimum oporności bakterii na środki przeciwdrobnoustrojowe jest istotne, gdyż chore zwierzęta potrzebują odpowiedniego leczenia. W kilkunastu pracach IDF podkreśla się znaczenie zmniejszenia i optymalnego stosowania antybiotyków i w ten sposób, zapobiegania oporności drobnoustrojów. Oprócz przyczyniania się do zmniejszenia stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych w skali międzynarodowej, IDF monitoruje także oporność na te środki w przypadkach zapalenia wymion i obecności innych organizmów chorobotwórczych. IDF gromadzi informacje dotyczące stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych, podaje wskazówki w zakresie wykrywania zapalenia wymion (*mastitis*) oraz zaleca praktyki dobrego postępowania w stosowaniu dojarek mechanicznych. Właściwe stosowanie nowoczesnych metod stanowi część pracy tych urządzeń. IDF wspiera ograniczanie środków przeciwdrobnoustrojowych do zapobiegania zakażeniom, a nie promowania ich stosowania. Omawiane środki powinny być stosowane tylko do leczenia chorób, kiedy są do tego wskazania. Poza tym, praca IDF nad zapewnieniem bezpieczeństwa żywności jest istotna dla zagwarantowania zdrowia konsumentów i zmniejszenia ryzyka rozprzestrzenienia się oporności na antybiotyki u ludzi. Bezpieczeństwo biologiczne jest bardzo ważne, dla uniknięcia rozprzestrzenienia się organizmów chorobotwórczych i oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (ang. antimicrobial resistance, AMR) pomiędzy stadami i pomiędzy poszczególnymi zwierzętami, ale także ich przejścia od ludzi na zwierzęta.

Na zakończenie, pragnę zachęcić Państwa do uczestnictwa w następnej Konferencji IDF poświęconej zagadnieniom zapalenia wymion (*mastitis*) (14 – 16 Maja 2019 r, Kopenhaga).

Jest to platforma porozumienia dla specjalistów w tej dziedzinie, w celu wymiany wiedzy i spostrzeżeń na temat stanu zdrowotnego wymienia i jakości mleka.

Dr Olav Østerås

Przewodniczący Stałego Komitetu IDF

ds. Zdrowia i Dobrostanu Zwierząt

olav.osteras@tine.no

PRZEDMOWA OD WYDAWCY NAUKOWEGO

Drogi Czytelniku,

Mam zaszczyt zaprezentować 12-te wydanie Raportu IDF o Stanie Zdrowia Zwierząt. W niniejszej publikacji przedstawiamy artykuły dotyczące szerokiego zakresu tematów dotyczących programów dobrostanu zwierząt, zapalenia wymion, stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych i oporności na nie, jakości mleka, reprodukcji i płodności zwierząt.

Życzymy wszystkim Czytelnikom interesującej i przydatnej lektury.

Dr Louise Winblad

Członek IDF, Szwecja

louise.winbladvonwalter@vxa.se

oraz

Dr Maria Sánchez Mainar

Dyrektor IDF ds. Nauki i Norm

msanchezmainar@fil-idf.org

Australia: Planowanie rozsądnego stosowania antybiotyków u krów w okresie zasuszenia w australijskich stadach bydła mlecznego

„The Dry Cow Consult [3] jest narzędziem internetowym przeznaczonym do stosowania przez rolników w porozumieniu z lekarzem weterynarii raz do roku”

Susannah Tymms



Antybiotyki odgrywają ważną rolę w zachowaniu zdrowia bydła mlecznego i istotne jest, aby rolnicy mieli stały dostęp do skutecznych leków, aby ochraniać zdrowie, dobrostan i produktywność swoich stad. Jednakże, istnieje ogólnoswiatowy niepokój dotyczący rosnącego występowania oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (AMR, *antimicrobial resistance* – przyp. tłum.) stosowane wobec organizmów chorobotwórczych zarówno u ludzi jak i zwierząt. Zrównoważone i odpowiedzialne stosowanie środków przeciwdrobnoustrojowych jest kluczowe dla zmniejszenia oporności bakterii i przyczynienia się do strategii zwanej „Jedno Zdrowie” wobec AMR.

Chociaż w naszych gospodarstwach produkujących mleko notuje się stosunkowo niski poziom stosowania antybiotyków, australijski przemysł mleczarski pragnie odegrać pewną rolę dla przyszłych pokoleń w zapewnieniu, że pozostanie pewien zakres skutecznego leczenia przeciwdrobnoustrojowego. Antybiotyki stosowane przy zasuszeniu krowy stanowią wysoki procent wszystkich antybiotyków stosowanych w australijskich stadach bydła mlecznego, dlatego też przemysł mleczarski zachęca rolników i lekarzy weterynarii zajmujących się bydlęciem mlecznym do ponownej oceny sposobu przepisywania i stosowania terapii antybiotykami u krow mlecznych w okresie zasuszenia.

Od początku 2000 roku, w rozszerzonym projekcie dotyczącym chowu krow mlecznych w Australii promowano najlepsze praktyki doju i zasuszania krow w celu zapobiegania i ograniczenia wpływu klinicznego i podklinicznego zapalenia wymion (*mastitis*). Kluczowe działania obejmowały „sztandarową” publikację: ‘Wytyczne Zwalczenia *Mastitis* w Gospodarstwie’ [1] oraz dwudniowe akredytowane kursy szkoleniowe pod hasłem „Kubki udojowe założyć – Kubki Udojowe zdjąć” (ang. *Cups On Cups Off* – przyp. tłum.) dla personelu przeprowadzającego dój w gospodarstwach. Instruktażowe filmy video oraz stosowne poradniki wizualne [2] były także częścią szkolenia, aby umożliwić rolnikom stosowanie ich podczas pracy i wprowadzania do pracy nowego personelu zajmującego się dojem. Wspomniana wyżej działalność jest uzupełnieniem innych mleczarskich projektów prowadzonych w Australii mających na celu poprawę całościowego planowania w gospodarstwie, co pozwala na kierowanie ryzykiem bezpieczeństwa biologicznego.

We wspomnianym powyżej Projekcie opracowano zaplanowane ostatnio spotkania (rozmowy) mające na celu poprawę kontaktów lekarza weterynarii i rolnika produkującego mleko dotyczące przepisywania, wydawania i stosowania leków dla krow w okresie zasuszenia. Konsultacja ze swoim lekarzem weterynarii dotycząca zasuszonej krowy (ang. *Dry Cow Consult* [3] – przyp. tłum.), oparta jest konsultacji przez Internet i odbywa się raz do roku. Rolnik identyfikuje podstawowe ryzyka związane z zapaleniem wymion w swoim stadzie w okresie zasuszenia, a lekarz weterynarii zapewnia ze swej strony wsparcie w zapobieganiu *mastitis* oraz kontrolę on-line z odpowiednimi wskazówkami dotyczącymi selektywnego leczenia krow terapią antybiotykową. Planowanie ze sporym wyprzedzeniem procesu związanego z zasuszeniem krow jest kluczowym elementem; ułatwia rolnikom prawidłowe podejście do wszystkich aspektów zagadnienia: identyfikacji i selekcji krow, poziomu produkcji mleka, koordynacji czasowej okresu zasuszenia, wyboru leku (środek uszczelniający strzyki do wewnętrznego stosowania czy terapia antybiotykowa), technika aseptyczna przy

zastosowaniu takiego leku oraz utrzymywanie środowiska o niskim poziomie ryzyka po okresie zasuszenia.

Aby w dalszym ciągu promować przyjęcie przez rolników Programu „Dry Cow Consult”, projekt Countdown był przedstawiony ostatnio podczas prowadzonego na żywo internetowego seminarium, w którym uczestniczyło ponad 140 osób; podczas tego wydarzenia omawiano zalecane podejście do planowania selektywnej terapii zasuszonych krów, włącznie z praktycznymi efektami w gospodarstwie. Obecnie dostępny jest zapis wspomnianego seminarium [4].

Przedstawione powyżej nowe metody zostały poparte szeregiem prac o charakterze technicznym, projektem zwalczania *mastitis* „Countdown Technotes”, w oparciu o przegląd naukowych badań, opinie specjalistów oraz obserwacje praktyczne przeprowadzone w środowisku australijskiego gospodarstwa produkującego mleko. Projekty Technotes 15, 16 i 17 są obecnie walidowane w celu pokazania postępu, jaki dokonał się w zakresie wiedzy związanej z ryzykiem zapalenia wymion i strategii postępowania podczas okresu zasuszenia i po ociepleniu. Powyższa seria wytycznych projektu Countdown ma na celu poprawę zaufania rolników – producentów mleka do lekarzy weterynarii, którzy doradzają bardziej selektywne stosowanie terapii antybiotykowej przez rolników - producentów mleka w okresie zasuszenia krów i zostanie wkrótce opublikowana na stronie internetowej krajowego organu mleczarstwa Australii (Dairy Australia).

S. Tymms, K. Davis

Dairy Australia, Australia

Susannah.tymms@dairyaustralia.com.au

LITERATURA

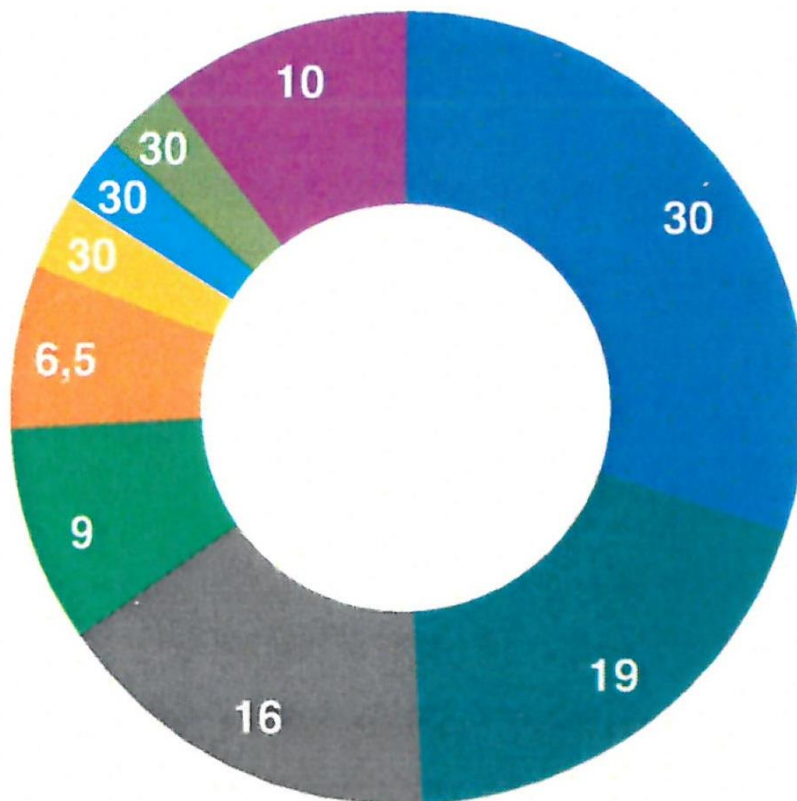
1. Dairy Australia (2013) Countdown 2020 Farm Guidelines for Mastitis Control. Retrieved from dairyaustralia.com.au: https://www.dairyaustralia.com.au/farm/animal-management/mastitis/countdown-resources?section=countdown_farm_guidelines#accordion-1
2. Dairy Australia (2015) Countdown Shed Guides and Videos. Retrieved from [https:// www.dairy-australia.com.au/shedguides](https://www.dairy-australia.com.au/shedguides)
3. Dairy Australia (2016) Dry Cow Consult – online tool. Retrieved from <http://www.drycowconsult.com.au>
4. Dairy Australia (2018) Rethinking Antibiotic Use at Drying Off – recorded webinar. Retrieved from Dairy Australia: dairyaustralia.com.au/farm/animal-management/farm-based-webinars/countdown-farmer-webinar-4-rethining-antibiotics-at-drying-off?keyword=webinar

Izrael: Niezwykła epidemia zapalenia wymion (*mastitis*) spowodowana opornym na metycylinę szczepem *Staphylococcus aureus* (MRSA) w stadzie bydła mlecznego badanego w zimie 2018 r

„Szczep *Staphylococcus aureus* oporny na metycylinę (ang. Methicillin-Resistant *Streptococcus aureus*, MRSA – przyp. tłum.) jest nowo powstającym zagrożeniem zarówno dla zdrowia człowieka jak i dla zdrowia zwierząt w gospodarstwach produkujących mleko. Pod koniec czerwca 2018 r w Izraelu, stwierdzono u 13% krów (n=142) zakażenie *S. aureus*, z których 98% wyizolowanych w szczepie zostało zdiagnozowane jako MRSA”

Falk Rama

W wielu krajach, szczep *Staphylococcus aureus* jest główną przyczyną zakaźnego zapalenia wymion u bydła. W Izraelu, 2% wyizolowanych szczepów zdiagnozowano w przypadkach podklinicznego zapalenia wymion i 3% u bydła z klinicznym zapaleniem wymion w Laboratorium Zdrowia Wymion i Jakości Mleka (UHL). W 2017 roku, przesłano do laboratorium 62 300 próbek mleka w celu przeprowadzenia analizy bakteriologicznej, a wyniki próbek z zapaleniem klinicznym (25% wszystkich próbek) przedstawiono na wykresie 1.



Wykres 1. Rozmieszczenie bakterii chorobotwórczych w próbkach mleka z klinicznym zapaleniem wymion, 2017 r

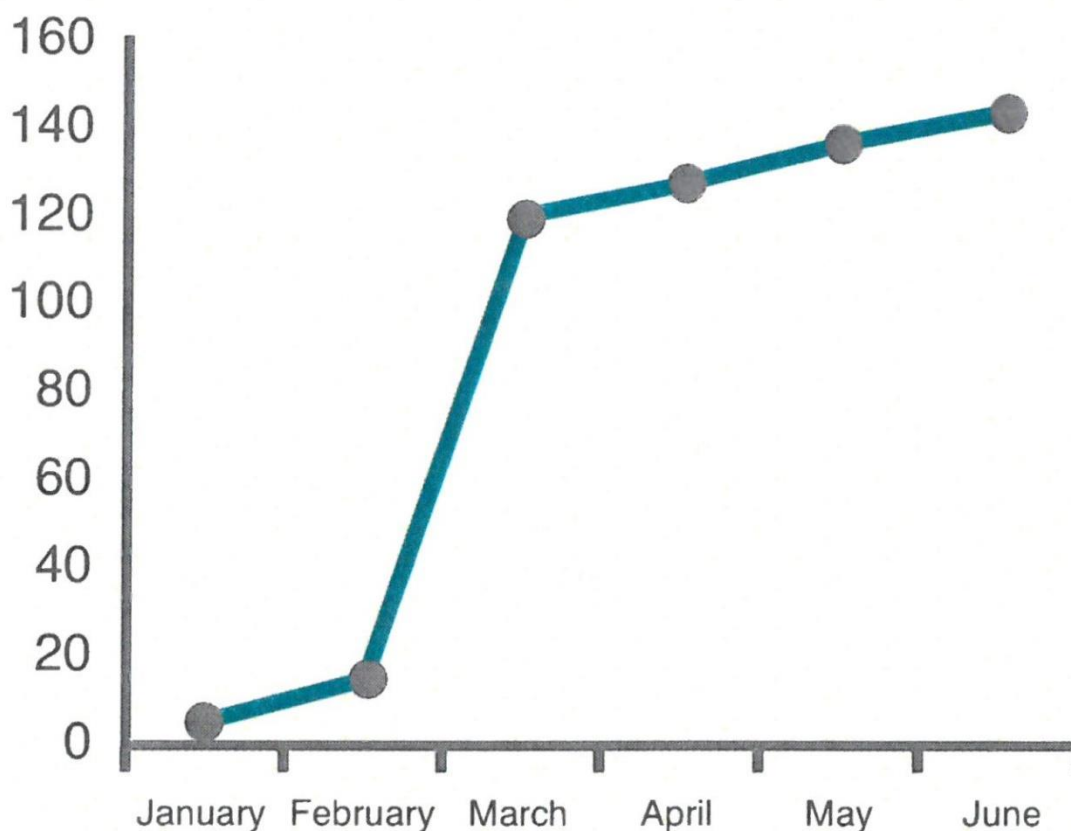
1. Staphylococci nie będące aureus
2. Staphylococcus aureus
3. E. coli
4. Inne Streptococci
5. S. dysgalactiae
6. S. uberis
7. T. pyogenes
8. Brak wzrostu
9. Inne

Staphylococcus aureus (MRSA) oporny na metycylinę jest nowo powstającym zagrożeniem zarówno dla zdrowia człowieka jak i dla zdrowia zwierząt w gospodarstwach produkujących mleko [1]. Od 2011 roku monitorowano występowanie omawianego szczepu w próbkach mleka pochodzących zarówno od indywidualnych krów jak również z mleka zbiorczego z tanków stosując do identyfikacji bakterii selektywną chromogeniczną pożywkę agarową. Wyniki za okres 2012 – 2018 przedstawiono w tab.1.

Rok	Liczba badanych próbek	Liczba wyizolowanych <i>S. aureus</i>	Liczba wyizolowanych MRSA	Liczba zakażonych stad
2012	54 600	628	1	1
2013	56 600	590	14	7
2014	53 000	632	2	2
2015	57 000	600	2	2
2016	54 000	747	4	2
2017	62 300	1 010	15	7

Tab.1. Ogólna liczba wyizolowanych MRSA uzyskanych z przypadków zapalenia wymion u krów w Izraelu w latach 2012-2017

Od 2018 roku, liczba wyizolowanych szczepów MRSA zmieniła się gwałtownie, kiedy zanotowano rosnącą liczbę próbek mleka z dodatnim wynikiem zakażenia szczepem MRSA, pochodzących z określonych gospodarstw. Była to spółdzielnia produkcyjna posiadająca 1 050 krów mlecznych, mająca 60-stanowiskową rotacyjną halę udojową, wykazująca stosunkowo wysoką średnią liczbę komórek somatycznych (350 000/ml). Wyniki analizy próbek mleka pochodzących z tego gospodarstwa przedstawiono na wykresie 2. Pod koniec czerwca 2018 r, 13% krów (n=142) było zakażonych szczepem *S. aureus*, w tym 98% wyizolowanych szczepów zdiagnozowano jako szczepy MRSA.



Wykres 2. Zbiorcza liczba krów zdiagnozowanych jako MRSA-dodatnie na podstawie próbek mleka pochodzących z gospodarstwa „M” położonego w północnej części Izraela, 2018 r.

Testy na wrażliwość na środki przeciwdrobnoustrojowe przeprowadzane z zastosowaniem dyfuzyjnej metody z krążkami wykazały, że wszystkie wyizolowane szczepy MRSA były odporne na penicylinę, oksacylinę, cefoksytynę, cefaleksynę/kanamycynę i marbofloksacynę; oraz wrażliwe na cefquinom, spektynomycynę/linkomycynę i ryfaksyminę. Reprezentatywne wyizolowane szczepy były genotypowane metodą PCR i sekwencjonowane oraz przypisywane typowi t011 spa, typowi sekwencji *multilocus sequence type* (MLST, metoda sekwencjonowania genów – przyp. tłum.) CC398 oraz potwierdzane jako dodatnie dla *mecA*. (gen *mec A* jest obecny w bakteriach i odpowiada za oporność na antybiotyki – przyp. tłum.). Niniejsza charakterystyka jest typowa dla szczepu MRSA’ pochodzącego od zwierząt (LA-MRSA), głównej przyczyny schorzenia występującego u różnego rodzaju zwierząt i u ludzi, szczególnie w Europie [2]. Poza krowami, zdiagnozowano szczep LA-MRSA wyizolowany z nosa u dwóch z 12 pracowników gospodarstwa którzy byli nosicielami.

W niniejszym artykule poinformowano o niezwyklej epidemii zapalenia wymion u bydła spowodowanego ogólnie szczepem *S. aureus*, a specyficznie przez szczep MRSA; miało to miejsce w Izraelu, gdzie występowanie *S. aureus* w przypadkach zapalenia wymion (*mastitis*)

jest niskie. We wspomnianej epidemii, szczep LA-MRSA wykryto u 142 krów. W 2018 roku, w Izraelu zdiagnozowano szczep LA-MRSA w 5 innych gospodarstwach; jednakże, zdiagnozowanych krów były dużo mniej, w skali od 1 – 11 krów z dodatnim wynikiem obecności szczepu MRSA, w stadach liczących od 55 do 300 krów.

Pełna charakterystyka omawianych wyizolowanych szczepów jest w opracowaniu.

R. Falk¹, S.E. Blum², A. Shwimmer³, S. Friedman^{1,3}

¹Israel Dairy Board, Israel; ² National Mastitis Reference Center, Israel; ³Israel Dairy Board, Israel

rama@milk.org.il

LITERATURA

1. Morgan, M. (2008) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals; zoonosis or humanosis? J. AntimicrobChemother 62:1181-7, doi:10.1093/jac/dkn405
2. Holmes, M.A. Zadoks, R.N. (2011) Methicillin resistant *S. aureus* in human and bovine mastitis. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia 16, 373-382, <http://dx.doi.org/10.1007/s10911-011-9237-x>

Nowa Zelandia: Aktualna sytuacja w zakresie występowania *Mycoplasma bovis* w sierpniu 2018 roku

INFORMACJE PODSTAWOWE

21 lipca 2017 roku, próbki pobrane od stada krów mlecznych w regionie Płd. Canterbury w Nowej Zelandii zostały zdiagnozowane jako dodatnie pod kątem obecności *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*), bakterii, która powoduje schorzenie u bydła i jest szeroko rozpowszechniona na skalę międzynarodową, a która nigdy przedtem nie była zidentyfikowana w Nowej Zelandii. Powodując nieuleczalne schorzenie u krów, *M. bovis* może prowadzić do istotnych i długotrwałych strat dla producentów mleka i mięsa oraz powodować poważne kłopoty w postępowaniu z chorobami i z zapewnieniem dobrostanu zwierząt. Epidemii zdiagnozowano u krów nie będących w okresie laktacji. Zaobserwowane objawy kliniczne obejmowały około 40% zwierząt w obrębie zakażonej grupy w przeważającej części zapalenia wymion (*mastitis*) w wielu ćwiartkach wymion. U ograniczonej liczby krów zaobserwowano kulawiznę wraz z obrażeniami o charakterze artretycznym, zlokalizowanymi w okolicy pęcin. Następnie, podczas ocielania zaobserwowano pewne schorzenia w przypadku cieląt przedwcześnie urodzonych. Dotknięte tym schorzeniem cielęta wykazywały ograniczoną zdolność do pobierania pokarmu i zwierzęta albo umierały albo były poddawane eutanazji.

Badania podjęte przez Ministerstwo ds Głównych Branż Przemysłowych Nowej Zelandii (MPI) potwierdziło obecność *M. bovis* w posiewie, metodą PCR i sekwencjonowania DNA [1]. Uprzedni nadzór przeprowadzony przez przemysł mleczarski, podjęty w 2009 roku pokazał, że omawiany drobnoustrój uważano wtedy za nieobecny w Nowej Zelandii. W oparciu o niniejszą informację oraz wyniki początkowych badań aktualnie występującej epidemii, podjęto decyzję o rozpoczęciu działań na skalę krajową z następującymi celami (Tab.1).

Tab.1. Reakcja i cele działania

Cele podjętej reakcji	Cel zadań
1. Obecność <i>M. bovis</i> zgodnie ze stwierdzonym rozmieszczeniem w Nowej Zelandii	Zapewnić, aby były utrzymane wszystkie możliwe środki kontrolne
2. Ocena możliwości wyeliminowania	Zapewnić, żeby środki wyeliminowania problemu były rozważone w możliwie jak największym zakresie
3. Określenie i śledzenie rozmieszczenia <i>M. bovis</i>	Informowanie o podejmowaniu decyzji dotyczącej tego problemu
4. Zaangażowanie partnerów ze strony przemysłu, interesariuszy oraz praca z nimi w celu efektywnego kierowania omawianą epidemią	Praca z partnerami i interesariuszami i poprzez nich w celu osiągnięcia zamierzonych celów reagowania

5. Utrzymanie zaufania hodowców do nowozelandzkiego systemu bezpieczeństwa biologicznego i ochrony utrwalonych wartości	Identyfikacja wszystkich partnerów i interesariuszy w reagowaniu na problem aby móc efektywnie skoordynować podejmowane wysiłki
6. Zapewnienie, aby dobrostan zwierząt należących do rolników, których problem dotyczy, był skutecznie zarządzany	Zminimalizowanie zakłóceń pomiędzy stronami o charakterze biznesowym i stresu emocjonalnego

AKTUALNA SYTUACJA

Początkowo reakcja na występującą epidemię obejmowała standardowe procedury epidemiologiczne w celu identyfikacji prawdopodobnie zakażonych obiektów w oparciu o śledzenie historii problemu, po którym następowało badanie i potwierdzenie stanu zakażenia. Poza tym, podjęto nadzór polegający na pobieraniu próbek mleka zbiorczego i mleka „mastitowego” (pochodzącego od chorych zwierząt); mleko badano metodą PCR we wszystkich stadach bydła mlecznego w skali kraju w późnym okresie roku 2017 i wczesnym okresie roku 2018. W celu zidentyfikowania jakichkolwiek nie wykrytych dotąd zakażonych stad, omawiana kontrola mleka jest obecnie powtarzana we wszystkich stadach krów mlecznych badanych w okresie ocielenia wiosennego; sześć testów jest powtarzanych co 2 tygodnie metodą PCR i testem ELISA. Prowadzone jest także badanie zwierząt przeznaczonych na mięso w pomieszczeniach ubojowych. W oparciu o aktualne wyniki badań, decyzja o kontynuowaniu podjętych kroków dla wyeliminowania problemu będzie podlegać korekcie w końcu 2018 roku.

Przedstawienie wszystkich obiektów, które zostały zidentyfikowane jako zakażone, było wynikiem śledzenia ruchu zwierząt, tam gdzie wystąpiło zakażenie jako konsekwencja zakupu zakażonych zwierząt od zidentyfikowanych obiektów. Wszelkie dowody sugerują pojedynczy punkt „wejścia” choroby, które miało miejsce w późnym okresie 2015 r – wczesnym okresie 2015 r (Tab.2). Droga wtargnięcia bakterii nie została ustalona.

Tab.2. Statystyki dotyczące reakcji na problem do 26 września 2018 r

Liczba aktywnych potwierdzonych zakażonych obiektów	37
Liczba obiektów w ramach obszaru uznanego za zastrzeżony	58
Liczba próbek otrzymanych przez AHL	195 746
Liczba zakończonych badań	181 971
Liczba śledzonych obiektów	5 137

Wszystkie miejsca zidentyfikowane (Fot.1) jako zakażone zostały pozbawione zwierząt, zostały wyczyszczone i zdezynfekowane, a następnie ponownie zasiedlone zwierzętami. Podjęte działania były zgodne z Ustawą o Bezpieczeństwie Biologicznym. Ustawa ta zapewnia rekompensaty za straty poniesione przez danych rolników.

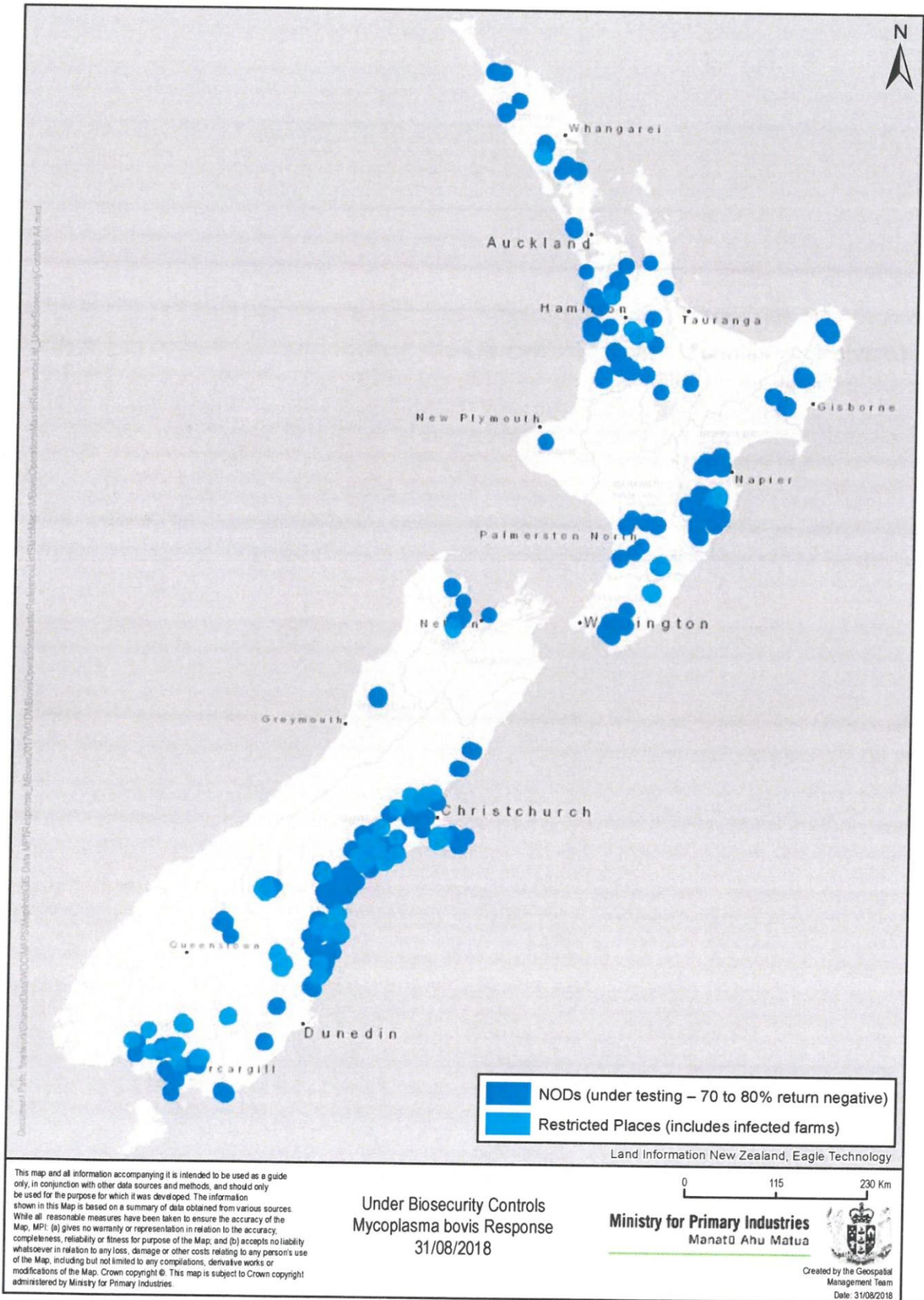


Figure 1 – Location distribution map

Fot.1. Mapa rozmieszczenia omawianych miejsc

Miejsca zaznaczone na ciemno niebiesko - NODs (w ramach badań – 70-80% ujemne)

Miejsca zaznaczone jaśniejszą barwą niebieską - Miejsca ograniczone (obejmuje zakażone gospodarstwa)

Kontrola w ramach Bezpieczeństwa Biologicznego wobec *Mycoplasma bovis*

31/08/2018

WNIOSKI

Wyeliminowanie *M. bovis* z populacji bydła w Nowej Zelandii będzie kontynuowane, aż uzyska się badania świadczące, że nie jest konieczne i/lub nie ma ekonomicznego uzasadnienia wspierania aktualnej kontroli. Aby przedstawić zakres rozprzestrzeniania się choroby i środków jej zwalczania przyjęto dalsze wspieranie przeprowadzanych działań.

Lindsay Burton

Fonterra Co-operative Group Ltd.,

Nowa Zelandia

Lindsay.butron@fonterra.com

LITERATURA

1. Ministry for primary industries (2018) Prevention and control of *Mycoplasma bovis*. Available at: <https://www.mpo.govt.nz/protection-and-response/mycoplasma-bovis/> Accessed 31 August 2018

BADANIA

PONOWNE PRZEMYŚLENIE DEFINICJI WYKRYWANIA ZAPALENIA WYMION (MASTITIS): POZOSTAWIENIE TYLKO PRZYKŁADU KLINICZNEGO ZAPALENIA WYMION

PRACE GRUPY ZADANIOWEJ IDF DOTYCZĄCE WSKAZÓWEK STOSOWANIA METOD W KONTROLI ZDROWIA I PRODUKCYJNOŚCI ZWIERZĄT

Rolnicy-producenci mleka mają do dyspozycji kilkanaście metod wykrywających stan zwierząt, szczególnie w ocenie zdrowia i płodności krów. Zakres pracy takimi metodami jest ogromnie szeroki, gdyż istnieje rozległa gama problemów związanych ze zdrowiem i płodnością zwierząt, do których można by się odnieść, stosując te metody. Żadna z obecnie dostępnych metod nie zapewnia wiarygodnej zautomatyzowanej możliwości podejmowania decyzji (Rutten, 2013). Grupa zadaniowa IDF postanowiła podjąć pracę nad oceną metod skierowanych na te obszary działania (istniejące lub nowe), które wspierają podjęcie interwencji przez rolnika-producenta mleka.

Od wczesnych lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku, prowadzono badania nad zautomatyzowaną metodą wykrywania zapalenia wymion (*mastitis*) (Brandt i wsp., 2010; Nielen i wsp., 1992). *Mastitis* wiąże się z dwoma aspektami jakości mleka, które są stosowane w większości krajów zajmujących się produkcją mleka: liczbą komórek somatycznych (ang. SCC, *somatic cell count* - przyp. tłum.) oraz, jeśli zapalenie wymion jest kliniczne, wizualną oceną anormalnego mleka (w dalszej części niniejszego artykułu określane jako mleko anormalne). Ponadto, zapalenie wymion jest najczęściej występującą chorobą w krajach rozwiniętych - produkujących mleko. Opracowanie i stosowanie metod wykrywania *mastitis* na bieżąco przyciąga wiele uwagi od czasu wprowadzenia automatycznych aparatów udojowych (ang. AMS, *automatic milking systems* – przyp. tłum.) w połowie lat dziewięćdziesiątych XX wieku (Viguier i wsp., 2009). W gospodarstwach produkujących mleko, dobrze uznaną metodą wykrywania klinicznego *mastitis* (CM, *clinical mastitis*) jest osmykiwanie przed dojem i badanie siary pod kątem anormalności. Podczas doju, anormalne mleko wykrywano za pomocą wizualnej obserwacji.

Od 1992 roku, opublikowano około 20 recenzowanych prac z opisem i oceną wykrywania klinicznego zapalenia wymion (Hogeveen i wsp., 2010). Istnieje duża różnorodność stosowania metod i algorytmów. Wszystko to powoduje, że uzyskane wyniki są nieporównywalne. Istnieje także znaczna różnica pomiędzy metodami wykrywania i dużymi różnicami dotyczącymi czasu oznaczania *mastitis* i małym podobieństwem pomiędzy danymi z badań. Wobec tego trudno jest porównywać stosowanie różnych metod wykrywania klinicznego zapalenia wymion. Tak więc rolnicy-producenci mleka mogliby podejmować błędne decyzje inwestycyjne.

Aż do chwili obecnej, w badaniach dotyczących zautomatyzowanego wykrywania *mastitis* stosowano metody wizualnego wykrywania zapalenia wymion jako normę. Przez dziesiątki lat, wykrywanie zapalenia wymion u krów w gospodarstwach oparte było na wizualnej obserwacji mleka, badaniu klinicznym wymienia i ogólnej kondycji krowy, wsparte przez ilościowe pomiary liczby komórek somatycznych n.p. z zastosowaniem próby kalifornijskiej (ang. California Mastitis Test, CMT). Mimo, że dokładność zautomatyzowanej metody wykrywania klinicznego zapalenia wymion mogłaby być niższa niż wykonywanie badania przez wyszkolonych pracowników np. z personelu obsługi doju, powtórne pobranie próbek mleka przy każdym doju daje możliwość zidentyfikowania zmian podklinicznych i monitorowania ich w czasie, co pozwala na wczesne wykrycie zakażeń wewnątrzwymieniowych. Metody automatycznego wykrywania anormalnego mleka polegającego na zmianie barwy, zmiennej przewodności elektrycznej mleka lub zmianach w innych wewnątrzwymieniowych wyznacznikach są w coraz większym stopniu stosowane w automatycznych aparatach udojowych, chociaż nie spełniają one ani norm dokładności badania, ustalonych wiele lat temu, ani też wydajność testu nie jest znana.

IDF ma wiodący głos w zakresie zapalenia wymion w przemyśle mleczarskim. Wobec tego, wskazówki dotyczące oceny działania metody i wykorzystania danych pochodzących z tych badań dotyczących zdrowia wymion powinny pochodzić od IDF. Konsekwentnie, grupa zadaniowa IDF prowadzi aktualnie pracę nad wytycznymi obejmującymi określenie, jakie typy zakażeń wewnątrzwymieniowych, klinicznych i podklinicznych powinna wykrywać omawiana metoda, z położeniem nacisku raczej na ewentualną interwencję przez rolnika niż własne jego działanie zgodnie ze starą metodą.

Grupa Zadaniowa IDF ds Metod pracuje w następujących obszarach w oparciu o potencjalne interwencje ze strony rolników:

- Krowy potrzebujące natychmiastowej uwagi,
- Krowy nie potrzebujące natychmiastowej uwagi: symptomy podkliniczne i inne
- Krowy wymagające uwagi przy zasuszaniu
- Monitorowanie stanu zdrowia wymion u krów w stadzie oraz zarządzanie w oparciu o krytyczne punkty kontroli zgodnie z technologią metod specyficznych dla stada.

Niniejszy dokument zostanie zaprezentowany podczas Konferencji IDF na temat Mastitis w 2019 roku w Kopenhadze

H. Hogeveen¹, G. Dalen², Ilka Klaas³

¹ Wageningen University, the Netherlands

² TINE Norway Dairy, Norway

³ DeLaval International AB, Sweden

Henk.hogeveen@wur.nl

LITERATURA

1. Brandt, M., Haeussermann, A., Hartung, E. (2010) Invited review: Technical solutions for analysis of milk constituents and abnormal milk. *Journal of Dairy Research* 93: 427-436.
2. Bulletin of the IDF No. 448/2011(2011) Suggested Interpretation of Mastitis Terminology (revision of Bulletin of IDF No. 338/1999).
3. Nielen, M., Deluyker, H., Schukken, Y.H., Brand, A. (1992) Electrical conductivity of milk: Measurement, modifiers and meta-analysis of mastitis detection performance. *Journal of Dairy science* 75: 606-614.
4. Hogeveen, H., Kamphuis, C., Steeneveld, W. & Mollenhorst, H. (2010) Sensors and clinical mastitis – the quest for the perfect alert. *Sensors*, 10: 7991 – 8009.
5. Viguier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K & O’Kennedy, R. (2009) Mastitis detection: Current trends and future perspectives. *Trends in Biotechnology*, 27: 486 – 493.

SUCHE, CZYSTE I PRAWDŁOWO ODŻYWIONE BYDŁO PRZYCZYNIĄ SIĘ DO OBNIŻENIA WYSTĘPOWANIA ZAPALENIA WYMION (MASTITIS) I UMOŻLIWIA OGRANICZENIE STOSOWANIA ŚRODKÓW PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH

„Wyeliminowanie ochrony antybiotykowej nie koniecznie musi dać w rezultacie wyższy stopień nowych zakażeń wewnątrzwymieniowych. Poprzez modyfikację znanych czynników ryzyka oraz optymalizację zarządzania stadem, można uzyskać równie niskie poziomy ryzyka tak jak wtedy, kiedy stosuje się profilaktykę antybiotykową.”

MARIA Sánchez Mainar

WNIOSKI

Wyniki przedstawione podczas Międzynarodowej Konferencji na temat Zapalenia Wymion (Mastitis) u Bydła w 2018 roku wnoszą swój wkład do lepszego zrozumienia występowania zapalenia gruczołu mlekowego u krów mlecznych. Poprawa reakcji odpornościowej i odpowiednie zarządzanie stadem są kluczowymi czynnikami w zwalczaniu *mastitis* przy niestosowaniu zapobiegawczych środków przeciwdrobnoustrojowych.

ZMNIEJSZENIE WYSTĘPOWANIA ZAPALENIA WYMION W CELU OGRANICZENIA STOSOWANIA ŚRODKÓW PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH

Uznaje się, że bydło jest głównym źródłem bakterii chorobotwórczych wykazujących oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe. Jest to prawdopodobnie spowodowane znacznymi ilościami środków przeciwdrobnoustrojowych stosowanych w chowie bydła na kilogram żywej masy ciała. Istnieje obawa, że organizmy chorobotwórcze albo materiał genetyczny kodujący oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe mogą przejść ze zwierząt na ludzi. Przypadki zakażeń człowieka szczepem bakteryjnym *Staphylococcus aureus* opornym na metycylinę, a szczególnie *Escherichia coli* z rozszerzonym spektrum beta-laktamazy (ESBL) pochodzącym od zwierząt doprowadziły do pojawienia się tej bakterii w wielu środowiskach.

Jednakże, w stadach bydła mlecznego, argumenty powyższe mają mniejsze zastosowanie, ponieważ poziomy oporności są ogólnie niskie; zakłada się, że przeniesienie genów oporności na człowieka ma mniejsze znaczenie, a całe mleko dostarczane do przetwórcy mleka jest badane na zawartość pozostałości antybiotyków. Ponadto, ostatnie badania oparte na dokładnych danych z populacji zwierząt wskazują, że istnieje mały lub nie istnieje transfer genów ESBL bakterii gospodarza pomiędzy gatunkami zwierząt lub pomiędzy zwierzętami a ludźmi [1].

Okolo 85% środków przeciwdrobnoustrojowych stosowanych w sektorze mleczarskim ma na celu zwalczanie zapalenia wymion [2]. *Mastitis* jest wskaźnikiem poważnej reakcji zapalnej wynikającej z dysfunkcji wrodzonego układu odpornościowego, wynikającej z połączenia wzmożonej produkcji cząsteczek prozapalnych i obniżonego poziomu cząsteczek przeciwwzapalnych. Zazwyczaj występuje ono u krów w okresie okołoporodowym, i wynika z faktu, że układ odpornościowy jest osłabiony w okresie ocielania. Wrodzony układ immunologiczny wymienia krwi może tworzyć reakcję w odpowiedzi na stresujące czynniki zakaźne jak i nie-zakaźne. Wyeliminowanie ochrony antybiotykowej nie koniecznie musi powodować wtedy wyższy stopień nowych zakażeń wewnątrzwymieniowych. Poprzez modyfikację znanych czynników ryzyka zakażenia oraz optymalizację zarządzania stadem, można uzyskać równie niskie poziomy ryzyka zakażenia tak jak wtedy, kiedy stosuje się profilaktykę antybiotykową.

ZWALCZANIE ZAKAŹNYCH CZYNNIKÓW STRESU

Zakaźne czynniki stresu powstają w wyniku działania różnych organizmów chorobotwórczych obecnych w wymieniu, które mogą wywoływać stosunkowo różne reakcje zapalne. Na przykład, *S. aureus* prowadzi do niewystarczającej i nieco słabej reakcji zapalnej, ponieważ pobudza on raczej niskie rozpoznawanie bakterii poprzez receptory typu Toll i powolną ekspresję mediatorów stanu zapalnego. Ponieważ funkcje neutrofilów są zmniejszone, omawiany organizm chorobotwórczy wymyka się reakcji odpornościowej gruczołu mlekowego, prowadząc do chronicznego podklinicznego stanu schorzenia. Z drugiej strony, bakterie gramujemne takie jak *E. coli*, prowadzą do ostrzejszej i bardziej pogłębionej reakcji z powodu opóźnionej odpowiedzi leukocytów i szybkiego wzrostu bakterii, dając w rezultacie zwiększone narażenie na wytwarzane endotoksyny [3].

Wsparcie dla układu odpornościowego w celu uzyskania optymalnych reakcji może pomóc krowom w opieraniu się zapaleniu wymion, kiedy zdarzy się zakażenie. Pierwszą możliwością jest próba zwalczania bakteryjnych organizmów chorobotwórczych poprzez aktywne uodparnianie. Szczepionki mogłyby zawierać przeciwciała wobec bakteryjnych toksyn i/lub tworzonych przez bakterie biofilmów, które są zdolne do osiągnięcia odpowiedniego rozmiaru ochronnego w gruczole mlekowym. Odpowiednie postępowanie w uodparnianiu nie powinno wywoływać „niebezpiecznych” typów reakcji zapalnej lub powodować uszkodzenia tkanek. W tym celu, adjuwanty (adjuwant – środek wspomagający – przyp. tłum.) zawierające przeciwciała do zastosowania na śluzówkę mogłyby utrzymać miejscowe niezapalne reakcje IgA w gruczole mlekowym. Drugą możliwością byłoby zbadanie spowodowania tolerancji endotoksyn w gruczole mlekowym i wrodzonej pamięci odpornościowej. Można to osiągnąć poprzez wewnątrzkanalikowe wstrzyknięcia wzorców molekularnych (ang PAMP, *pathogen-associated molecular patterns* – przyp. tłum) związanych z niską dawką bakteryjnych organizmów chorobotwórczych przy zasuszeniu [3].

Zwalczanie zapalenia wymion (*mastitis*) jest ułatwione przez wczesne jego wykrywanie u chorych krów i w poszczególnych ćwiartkach wymienia. Można stosować specyficzne i efektywne kosztowo metody diagnostyczne. O leczeniu klinicznego zapalenia wymion należy zdecydować po zidentyfikowaniu szczepów bakterii z danego gospodarstwa. Selektywna

terapia zasuszonych krów może być efektywna bez stosowania profilaktyki w okresie zasuszenia. Alternatywne nowe podejście diagnostyczne mające na celu dokładną identyfikację organizmów chorobotwórczych powodujących *mastitis* może być wykonane przez sekwencjonowanie genu 16SrNA „mikrobiomu mleka” [4]. Związki przyczynowo-skutkowe pomiędzy zapaleniem wymion a „mikrobiomem mleka” są jeszcze trochę „naciągane” i nie jest w pełni jasne, czy DNA bakteryjnego pochodzenia stwierdzone w mleku reprezentuje autentyczny i reprezentatywny mikrobiom.

ZWALCZANIE NIEZAKAŻNYCH CZYNNIKÓW STRESU

Wśród niezakaźnych czynników stresu, nieodpowiednie żywienie może mieć wpływ na powstawanie prozapalnych lipidów [5]. Po ocieleniu, zaburzenia w ilości składników odżywczych w diecie lub przystosowanie metaboliczne takie jak ujemny bilans energetyczny, mogą zwiększyć metaboliczne czynniki stresu, takie jak nieestryfikowane kwasy tłuszczowe (NEFA, non-esterified fatty acids) [3]. Ciekawe, że rodzime rasy bydła wykazują lepsze wrodzone podstawowe reakcje odpornościowe w gruczole mlekowym i inne kluczowe cechy metaboliczne [6]. Na przykład, wydaje się, że wysokie poziomy NEFA występują prawdopodobnie w fenotypach wysoko-wydajnych zwierząt takich jak krowy rasy fryzyjskiej w porównaniu n.p. do krów rasy brunatnej szwajcarskiej [3]. Zapobieganie powstawaniu prozapalnym lipidom można dokonać przez unikanie intensywnej mobilizacji lipidów po ocieleniu, przy stosowaniu diety bogatej w kwasy tłuszczowe omega-3 i przez odpowiednie uzupełnienie mikroelementów. Wiadomo, że kwasy omega-3 mają właściwości przeciwzapalne. Żywienie krów kwasami omega-3 takimi jak olej z nasion lnu lub z ryb, poprawia funkcję limfocytów podczas ujemnego bilansu energetycznego, wzmacnia odporność podczas wysokich temperatur otoczenia i poprawia produkcję mleka oraz zdolności reprodukcyjne u krów w okresie okołoporodowym [7]. Kwasy tłuszczowe omega-6 natomiast, przeciwnie, generują reakcje prozapalne.

Czysta, sucha i dobrze przewentylowana ściółka jest najbardziej stosownym środkiem obniżenia stresu środowiskowego. Wysoka liczba bakterii w ściółce ma związek z uszkodzeniem stanu zdrowotnego wymienia i zależy od stosowanej ściółki. Ściółka pochodzenia organicznego tj. sucha masa obornika z recyklingu, wydaje się bardziej problematyczna niż ściółka nieorganiczna np. piasek, ponieważ składniki organiczne są pożywką dla obecnych bakterii [8]. Wobec tego, ważna jest odpowiednia zawartość substancji organicznej (idealnie mniej niż 5%) i suchej masy (idealnie więcej niż 95%) [9, 10]. Dłuższe leżenie zwierząt wskazuje na lepszy komfort krów i jest związane z mniejszym stopniem występowania kulawizny i wyższą wydajnością mleka. Jednakże krowy takie wykazują wyższy procent ryzyka narażenia się na środowiskowe organizmy chorobotwórcze wymienia [11].

Wreszcie, dojarki mechaniczne i sposób ich stosowania mogą mieć wpływ na stan strzyków [12]. Przeprowadzenie doju regularnie, delikatnie, szybko i w sposób rutynowy redukuje stres wymienia. Pustodój powoduje, że dana ćwiartka wymienia podlega stresowi i ma to wpływ na stan zdrowotny wymienia, które przy innych błędach doju mechanicznego powoduje pogorszenie. Automatyczne dojarki stosowane obecnie na całym świecie stosują dój każdej

ćwiartki oddzielnie, przy określonym zdejmowaniu kubków udojowych zależnie od specyficznej ćwiartki i w ten sposób obniżają możliwość wystąpienia pustodoju [13].

M. Sánchez Mainar, DVM, PhD¹,

M. Farre, DVM, PhD²,

¹ *International Dairy Federation,*

² *SEGES, Livestock Innovation*

msanchezmainar@fil-idf.org

LITERATURA

1. Dorado-Garcia, A., Mevius, D.J., Jacobs, J.J., Van Geilswijk, I.M., Mouton J.W., Wagenaar, J.A., Heederik, D.J., (2016) Quantitative assessment of antimicrobial resistance in livestock during the course of a nationwide antimicrobial use reduction in the Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 71:3607-3619.
2. McDougall, S., (2018) Antimicrobial usage and resistance in the dairy industry. Milan, Italy. *Proceedings of the 2018 International Bovine Mastitis Conference*, 67-74.
3. Amadori, M., (2018) Control of bovine mastitis in the 21st century: Immunize or tolerize. Milan, Italy. *Proceedings of the 2018 International Bovine Mastitis Conference*, 24-30.
4. Oultram, J.W.H., Ganda, E.K., Boulding, S.C., Bicalho, R.C. and Oikonomou, G. (2017) A metataxonomic approach could be considered for cattle clinical mastitis diagnostics. *Frontiers in Veterinary Science* 10; 4:36.
5. Sordillo, L.M., Mavangira, V. (2014) The nexus between nutrient metabolism, oxidative stress and inflammation in transition cows. *Animal Production Science* 54 (9); 1204-1214.
6. Curone, G., Filipe, J., Cremonesi, P., Trevisi, E., Amadori, M., Pollera, C., Castiglioni, B., Turin, L., Tedde, V., Addis, M.F., Riva, F. (2018) What we have lost: mastitis resistance in Holstein Friesians and in a local cattle breed. *Research in Veterinary Science* 116: 88-98.
7. Sordillo, L.M., (2018) Lipid mediators and the regulate of inflammation during mastitis. Milan, Italy. *Proceedings of the 2018 International Bovine Mastitis Conference*, 130-`40
8. Bradley, A.J., Leach, K.A., Green, M.J., Gibbons, J., Ohnstad, I.C., Black, D.H., Payne, B., Prout, V.E., and Breen, J.E. (2018) The impact of dairy cow's bedding material and its microbial content on the quality and safety of milk – A cross sectional study of UK farms. *International Journal of Food Microbiology*, 23, 269;36-45.
9. Godden, S., Patel, K., Royster, E., Timmermann, J., Crocker, B., Fox, L. (2018) relationships between bedding bacteria counts, bedding characteristics and udder health: we have a lot more to learn. Milan, Italy, *Proceedings of the 2018 International Bovine Mastitis Conference*, 36-44.
10. Klaas, I.C., Zadoks, R.N. (2018) Bedding management for better udder health and milk quality. Milan, Italy. *Proceedings of the 2018 International Bovine Mastitis Conference*, 45-57.

11. Hogan, J. and Smith, K.L. (2012) managing Environmental Mastitis. In: Vet Clin Food Anim. 2012, Elsevier Inc. 217-224.
12. Reinemann, D.J., Mein, G.A., Penry, J.F., Ohnstad, L. (2018) trends in milking system development and mastitis risk. Milan, Italy. Proceedings of the 2018 International Bovine Mastitis Conference, 83-101.
13. International Dairy Federation (2018) Bulletin of the IDF N° 491/218: teat-cup and cluster removal strategies for cattle and small ruminants. Review and recommendations. Available at; <https://store.fil-idf.org/product/bulletin-idf-n-491-2018-teat-cup-cluster-removal-strategies-cattle-small-ruminants-review-recommendations/>

Trendy oporności *Staphylococcus aureus* wyizolowanego z zakażeń wymienia u krów na środki przeciwdrobnoustrojowe stosowane w Argentynie od 1990 roku do chwili obecnej

Staphylococcus aureus jest jedną z najczęściej występujących, ważniejszych bakterii chorobotwórczych powodujących zapalenie wymion u krów mlecznych na całym świecie [1]. Terapia przeciwdrobnoustrojowa jest jednym z podstawowych elementów programów zwalczania zapalenia wymion spowodowanego przez *S. aureus*, zarówno w przypadkach podklinicznych przy zasuszaniu krów jak i w przypadkach klinicznych podczas laktacji [1]. Jednakże, stopień wyleczenia po kuracji antybiotykowej jest różny, ponieważ na prawdopodobieństwo wyleczenia zakażenia wymion spowodowanego przez *S. aureus* (ang. *intramammary infection*, IMI) ma wpływ wiele czynników związanych z gospodarzem, organizmem chorobotwórczym i reżimem leczenia [2]. Spośród czynników chorobotwórczych, oporność na antybiotyki jest oczywistą przyczyną niepowodzenia w leczeniu, chociaż wybór antybiotyków w oparciu o badania wrażliwości *in vitro* nie powinien zapewnić sukcesu terapeutycznego [3]. Mimo tej wady, większość autorów zgadza się, że badania wrażliwości bakterii na antybiotyki powinny być przeprowadzone przed leczeniem antybiotykami, głównie w przypadku podklinicznego zapalenia wymion [2]. Poza tym, badanie podatności bakterii na środki przeciwdrobnoustrojowe jest ważne dla monitorowania rozprzestrzeniania się opornych szczepów wśród populacji bakterii. Zarówno oznaczanie minimalnego hamującego stężenia antybiotyków (ang. *minimum inhibitory concentration*, MIC) jak i krążkowa metoda dyfuzyjna (ang. *disk diffusion*, DD), która jest metodą najszerszej stosowaną w rutynowych laboratoriach weterynaryjnych z powodu swej łatwości wykonania i niskiego kosztu, są stosowane na całym świecie do przeprowadzania badań wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe [4, 5].

Celem niniejszej pracy było dokonanie przeglądu opublikowanych badań w Argentynie dotyczącego wrażliwości szczepu *S. aureus*, wyizolowanego z próbki pobranej z zakażonego wymiona u krów na środki przeciwdrobnoustrojowe. Poszukiwania danych dotyczących przeglądu opublikowanych badań obejmowały takie słowa jak „mastitis”, „bydło”, „*Staphylococcus aureus*”, „gronkowiec koagulazo-dodatni”, „przeciwdrobnoustrojowy”, „wrażliwość” i „oporność”. Ponieważ poprzednie uzyskane wyniki wskazywały, że większość koagulazo-dodatnich gronkowców, wyizolowanych z mleka krów zdiagnozowano jako *S. aureus* [1], wzięto pod uwagę badania, w których charakteryzowano albo wyizolowane *S. aureus* albo koagulazo-dodatnie *Staphylococci*. Kryteriami dla wzięcia pod uwagę omawianych danych były: badania przeprowadzone w Argentynie, w których oceniano wrażliwość szczepu *S. aureus*, wyizolowanego z próbek mleka pobranych z ćwiartek gruczołu mlekowego i z próbek złożonych pochodzących od krów z podklinicznym i klinicznym zapaleniem wymion, na środki przeciwdrobnoustrojowe, stosując oznaczanie IMI lub próbę DD; badania niniejsze były opublikowane w recenzowanych czasopismach. Bazy danych Scopus, PubMed i Academic Google były przeszukiwane pod kątem różnojęzycznych prac naukowych i opublikowanych w okresie 1990 – 2018. Włączono tutaj wszystkie 9 naukowych

publikacji w Argentynie, które zawierały informacje o wrażliwości *S. aureus* wyizolowanego z próbek mleka od krów z zapaleniem wymion na środki przeciwdrobnoustrojowe (Tab.1). Tabela niniejsza zawiera tylko antybiotyki wymienione w co najmniej 3 pracach.

DYSKUSJA

Wzrasta niepokój dotyczący nadmiernego stosowania lub błędnego stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych w leczeniu i zapobieganiu chorob zakaźnych u bydła z powodu pojawienia się i rozprzestrzeniania organizmów opornych na środki przeciwdrobnoustrojowe. Organizmy te są dużym zagrożeniem dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz dla światowego ekosystemu [15]. Zapalenie wymion u krów jest najczęstszą przyczyną leczenia krów zarówno w okresie laktacji jak i nie będących w okresie laktacji [16, 17]. W Argentynie nie ma badań z tego zakresu, natomiast na świecie jest ich ograniczona ilość, w których porównuje się schematy oporności bakterii przed i po stosowaniu antybiotyków na przestrzeni lat, stosując takie same metody dla oceny pojawienia się oporności w wyniku stosowania antybiotyków [16]. Jednakże, liczne badania opisują występowanie oporności *S. aureus* na antybiotyki na przestrzeni czasu [5]. Antybiotyki, które były częściej podobnie oceniane w Argentynie to antybiotyki beta-laktamowe i te z klasy makrolidów-linkozamidów. Penicylina jest uważana za pierwszy antybiotyk z wyboru w leczeniu zapalenia wymion u krów. Oporność bakterii na penicylinę zmieniała się w różnych badaniach, wykazując wysoki procent oporności w ciągu pierwszych dwóch dekad (1990 – 2000) i niższy procent w badaniach przeprowadzonych w ciągu bieżącego dziesięciolecia. Tylko w jednym badaniu, opublikowanym w 2001 roku, wykryto koagulazo-dodatnie gronkowce, oporne na oksacylinę, wskazując, że mógłby to być odosobniony przypadek. Jednakże, ponieważ *S. aureus* oporny na metycylinę został także wykryty w kilku krajach [18], istnieje potrzeba ciągłego nadzoru w celu wczesnego wykrycia pojawienia się tego typu oporności.

W Argentynie, antybiotyki z klasy makrolidów-linkozamidów są często stosowane w leczeniu zapalenia wymion u krów [17]. Erytromycyna jest najbardziej powszechnie badanym makrolidem i jako reprezentant tej grupy, stosuje się kryteria jej oceny zaakceptowane dla człowieka [19]. W większości badań, oporność na erytromycynę była niska. Tylko w jednym badaniu w ciągu ostatniej dekady oporność przekroczyła 20% co jest wartością wyższą niż procentowe wskaźniki podawane zarówno w pracach z Argentyny jak i z innych krajów [5]. Pirlimycyna była dostępna handlowo w Argentynie w latach 90-tych, a ostatnio została z powrotem wprowadzona na rynek weterynaryjny. O wrażliwości bakterii na ten antybiotyk informowano w badaniach opublikowanych na początku dekady od 2000 roku, stosując kryteria interpretacji odpowiednie dla badań weterynaryjnych [19], wskazując na zmienną różnicę oporności pomiędzy różnymi badaniami i procentowe wartości porównywalne z poprzednimi wynikami w innych krajach [5].

Wnioskując, chociaż informacje są ograniczone, nie notuje się widocznego wystąpienia lub postępu w oporności *S. aureus* wobec najczęściej stosowanych antybiotyków w leczeniu zapalenia wymion u krów w Argentynie. Fakt ten pozostaje w zgodzie z wcześniejszymi sprawozdaniami, które obejmowały badania prowadzone w różnych krajach [5, 16]. Jednakże, istnieje potrzeba rozszerzenia niniejszych badań na inne organizmy chorobotwórcze,

odpowiedzialne za zapalenie wymion, stosując zharmonizowane podejście, pozwalające na pomiary trendów oporności w czasie [15]. Informacja niniejsza wraz ze wzrastającym poziomem wiedzy na temat stosowania antybiotyków w gospodarstwach mleczarskich w Argentynie [17] pozwoli na ocenę i proponowanie bardziej odpowiedzialnych działań i rozsądne stosowanie antybiotyków w gospodarstwach produkujących mleko.

Tabela 1.

Oporność *Staphylococcus aureus* wyizolowanego z przypadków zapalenia wymion u krów na środki przeciwdrobnoustrojowe stosowane w Argentynie [6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14]

Antybiotyk	% oporności								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Penicylina	14.81	77.5	55.89	40.3	47.6	48.4	14.3	28.12	33.85
Oksacylina	-	-	2.94	0	0	0	-	0	0
Erytromycyna	-	-	5.6	11.6	2	2.1	22.2	3.12	7.69
Pirlimycyna	-	-	14.71	7.7	4	-	-	-	-
N	33	79	34	206	101	95	63	96	65
Odniesienia	1	2	3	4	5	6	7	8	9

I. Molineri Ana^{1,2}, V. Neder¹,

L.F. Calvinho^{1,3}

¹ *Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Argentina,*

² *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Argentina,*

³ *Universidad Nacional del Litoral, argentina.calvinho.luis@inta.gob.ar*

LITERATURA

1. Barkema, H.W., Schukken, Y.H. & Zadoks, R.N., (2006). The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. J. Dairy Sci., 89:1877-1895
2. Calvinho L.F., Vitulich, C.A., Zurbriggen, M.A., de Canavesio, V., Tarabla, H.D., (1991a) Prevalence of udder pathogens in dairy herds from the Santa Fe dairy area (in Spanish). Therios, 18:188-96
3. Calvinho, L.F., Delgado, A.R., Vitulich, C.A., Occhi, H.L., de Canavesio, V., Zurbriggen, M.A., Tarabla, H.D. (1991b) *In vitro* susceptibility to antimicrobials of udder pathogens isolated from clinical mastitis from dairy herds of the Santa Fe dairy area (in Spanish) Vet. Arg. 8:677-680
4. Calvinho, L.F., Toselli, F.G., Weinmann, W.R., Canavesio, V.R., Neder, V.E., Iguasquiza, I.A. (2002) Antimicrobial susceptibility of coagulase-positive *Staphylococcus* isolated from bovine mastitis in the Central dairy area of Argentina. (in Spanish) Rev. Arg. Microbiol. 34; 171-175

5. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), (2013) Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA, 2013; Vol. 28 No. 8, 4th ed. Approved standard, VETO1-A4
6. Erskine, R.J., Walker, R.D., Bolin, C.A., Bartlett, P.C., White, D.G. (2002) Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. J. Dairy Sci., 85: 1111-1118
7. Erskine, R., Cullor, J., Schaellibaum, M., Yancey, B., Zeconi, A. (2004) Bovine mastitis pathogens and trends in resistance to antibacterial drugs. National Mastitis Council Research Committee Report; In: NMC Annual Meeting Proceedings. Pg 400-414
8. Gentilini, E., Denamiel, G., Lloretne, P., Godaly, S., Rebuelto, M., DeGregorio, O. (2000) Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolated from Bovine Mastitis in Argentina. J. Dairy Sci., 83:1224-1227
9. González Pereyra, V., Pol, M., Pastorino, F., Herrero, A. (2015) Quantification of antimicrobial usage in dairy cows and preweaned calves in Argentina. Prev. Vet. Med. 122:273-279
10. Hoe, F.G., Rugg, P.L. (2005) Relationship between antimicrobial susceptibility of clinical mastitis pathogens and treatment outcome in cows. J.A.V.M.A. 227:1461-1468
11. Huber, H., Keller, S., Giezendanner, N., Stephan, R., Zweifel, C. (2010) Prevalence and characteristics of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, in livestock, and in food of animal origin. Switzerland, 2009. Euro Surveill., 2010, 15:1-4
12. Micheo, C., Amand de Mendieta, V., Soriano, C., Tabera, A., Stefano, A., Casasnovas, G., Purrán P., Corradeti, A., Carabajal, S. (2001) Study of *in vitro* susceptibility of bacterial strain isolated from bovine mastitis in Mar y Sierras dairy area. (In Spanish). Vet. Arg. 18: 588-597
13. Neder, V.E., Araujo, L., Gianre, V.R., Calvino, L.F. (2016) Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in dairy farms from the central dairy area of Argentina (In Spanish) REDVET Rev. Electrón. Vet. Vol. 17 No. 9 – <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/nO90916.html>
14. Office International des Épizooties. (2016) The OIE Strategy on Antimicrobial Resistance and the Prudent Use of Antimicrobials. www.oie.int/antimicrobial-resistance
15. Oliver, S.P., Murinda, S.E. (2012) Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. Clin. Food Anim. 28: 165-185
16. Pellegrino, M.S., Frola, I.D., Odierno, I.M., Bogni, C.L. (2011) Mastitis bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche. (In Spanish). REDVET Rev. Electrón. Vet. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> Volumen 12 No. 7 – <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070711.html>
17. Russi, N.B., Bantar, C., Calvino, L.F., (2008) Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis in Argentine dairy herds. Rev. Arg. Microbiol. 40: 116-119
18. Srednik, M.E., Abate, S., Gentilini, E.R. (2016) Antibiotic susceptibility of *Staphylococci* isolated from milk samples obtained from bovine mastitis (In Spanish). In Vet. 18: 39-44
19. Zeconi, A., Calvino, L., Fox, L. (2006) *Staphylococcus aureus* intramammary infections. Bulletin of the International Dairy Federation, 408/2006, pp. 39, FIL-IDF, ISSN 0250-5118

Rzeczywistość i spostrzeżenia rolników – producentów mleka w Południowej Afryce w odniesieniu do problemu zapalenia wymion – mastitis w 2016 roku

STRESZCZENIE

W Południowej Afryce występują różnorodne formy organizacji przemysłowej produkcji mleka. Istnieje postępowanie w przypadku występowania *mastitis*, które – jeśli jest prawidłowo wykonywane – mogą poprawić stan zdrowotny wymienia i dalsze działania związane z produkcją mleka, ale nadawanie priorytetu w przypadkach wspomnianej różnorodności, mogłoby stanowić spore wyzwanie.

Tak jak w innych miejscach na świecie, przemysł mleczarski Południowej Afryki jest świadomy tych problemów i aktywnie podchodzi do problemu opornością środków przeciwdrobnoustrojowe. Przeprowadzenie i sfinansowanie niniejszej ankiety przez organizację producenckie mleka odzwierciedla zaangażowanie w tym temacie.

W 2015 roku, zainicjowano projekt sfinansowany przez przemysł: „Oporność bakterii na leczenie antybiotykami krów z zapaleniem wymion w okresie laktacji”. Ważną część projektu stanowiła ankieta dotycząca stosowanych praktyk zarządzania gospodarstwami mleczarskimi w Południowej Afryce, które odnoszą się do leczenia i zapobiegania zapaleniu wymion (*mastitis*).

W Południowej Afryce, występują cztery regiony mleczarskie, ogólnie pokrywające się terenowo z prowincjami Western Cape (EC), Eastern Cape (EC), Kwazulu-Natal (KN) i pozostałe prowincje połączone w Region Centralny (Rys.1). Większość mleka jest produkowana na terenach wzdłuż linii brzegowej przy czym ponad 50% mleka pochodzi z terenów pastwiskowych przy sezonowym ocielaniu się od czerwca do sierpnia (Rys.2). W Południowej Afryce występuje także ogólny trend zwiększania produkcji mleka w mniejszych gospodarstwach (Rys.3).

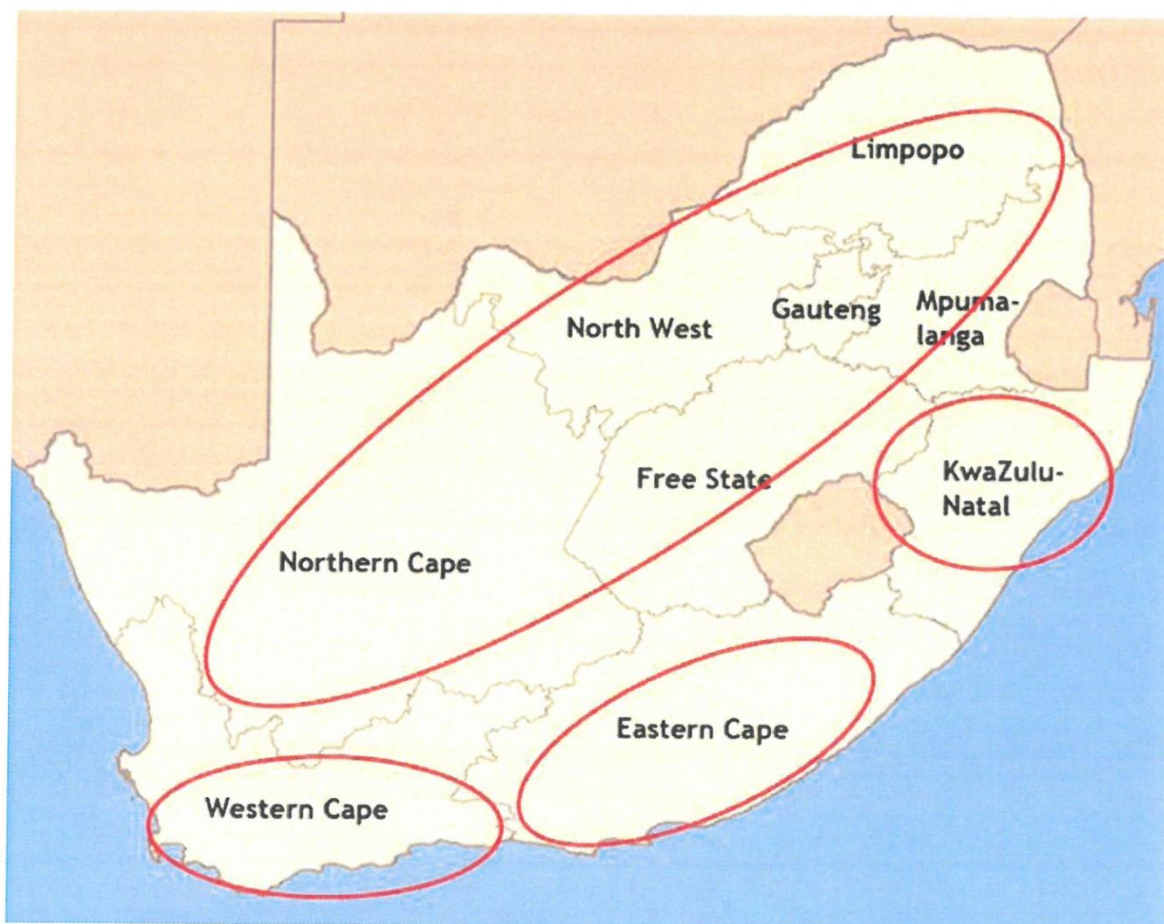
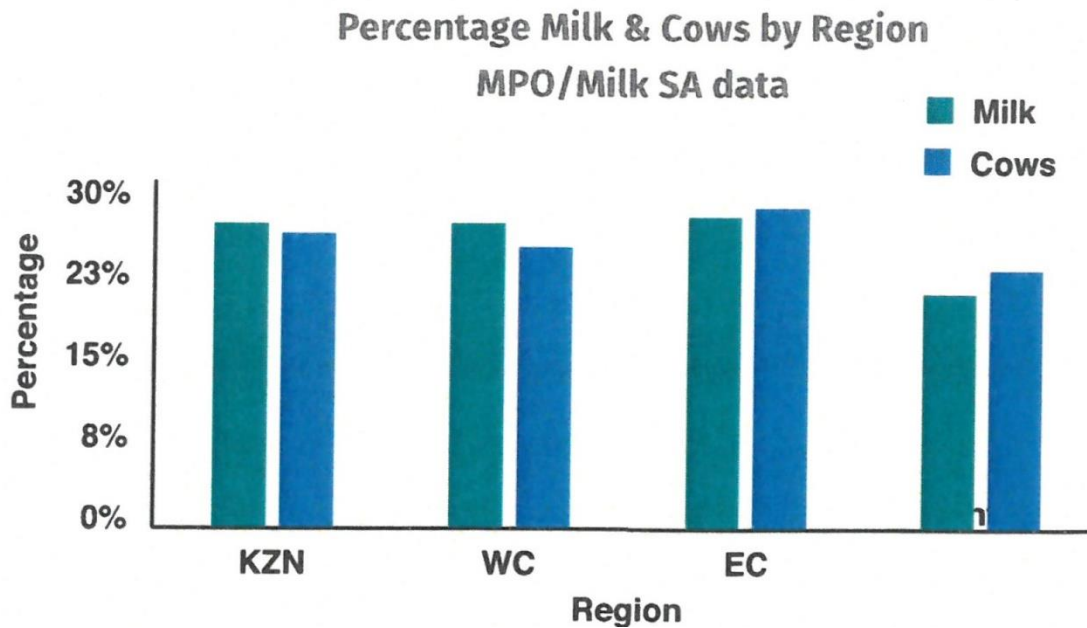


Figure 1 – The four dairy regions in South Africa.

Rys.1. Cztery regiony mleczarskie w Południowej Afryce



Rys.2. Rozmieszczenie krów mlecznych w Południowej Afryce

Oś pionowa lewa – procent mleka; Oś pozioma – liczba krów w regionie; kolor zielony – mleko, kolor niebieski - krowy

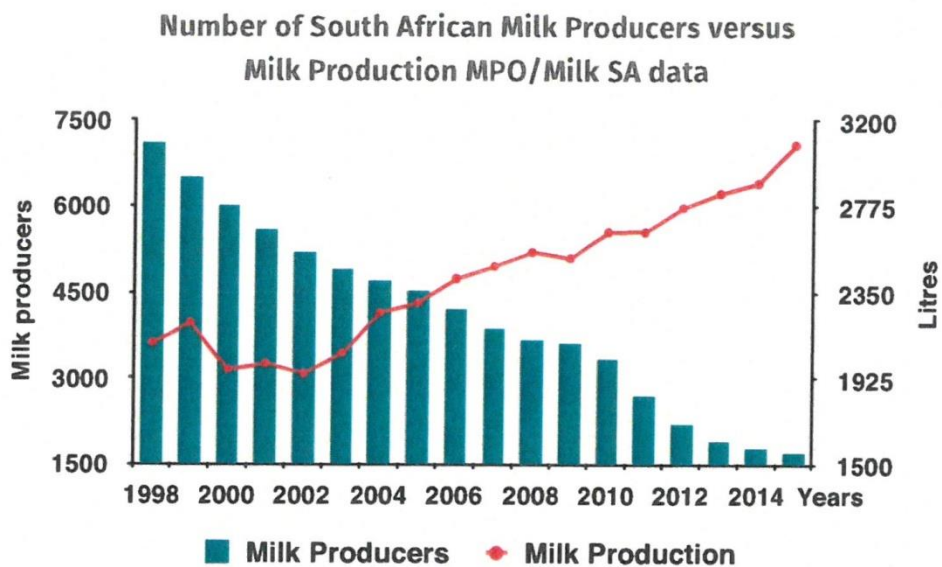


Figure 3 – The trend of dairy farm numbers and milk production in South Africa.

Rys.3. Trend dotyczący liczby gospodarstw produkujących mleko i produkcji mleka w Południowej Afryce

Oś pionowa lewa – Producenci mleka; oś pionowa prawa – w litrach mleka; kolor zielony – producenci mleka; kolor czerwony - produkcja mleka; years – lata

METODY

W kwietniu (jesień) 2016 roku, została rozesłana ankieta on-line do członków Organizacji Producentów Mleka (ang. Milk Producers Organization, MPO) [1, 2] – około 1 700 producentów mleka. Z ankietowanych gospodarstw wybrano losowo dwadzieścia gospodarstw posiadających ≥ 200 dojonych krów, po 5 z każdego regionu mleczarskiego, które zostały odwiedzone przez ankietatorów, którzy zbierali dalsze dane. Aby określić synchronizację czasową pomiędzy etapami rutynowego dojenia [3] zastosowano oprogramowanie (iPrep).

WYNIKI

Po weryfikacji, do analizy wybrano 147 ankiet (lub 8.6% od organizacji MPO). Wielkość stada objętego ankietą wahała się od 448.5 ± 423.6 SD (ang. *Standard Deviation*, odchylenie standardowe) (Rys.4) i była podobna niezależnie od typu chowu zwierząt – tylko pastwisko (49%), pastwisko plus żywienie koncentratami/lub pełnoporcjową mieszanką (ang. TMR, *Total Mixed Ration*) (35%) i tylko TMR (16%). Ilości krów rasy jersey i holsztyńskiej występowały w jednakowych ilościach.

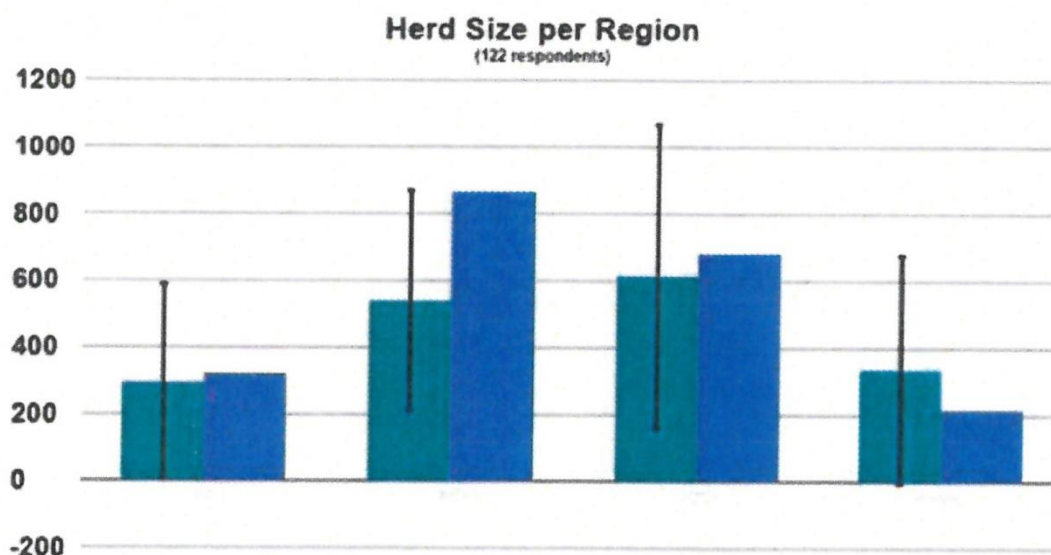


Figure 4 – Herd sizes in the different dairy regions in South Africa as compared to the Milk Producers' Organization census numbers.

Rys.4. Wielkość stada w różnych regionach mleczarskich w Południowej Afryce w porównaniu do liczby krów posiadanych przez członków Organizacji Producentów Mleka

Rolnicy produkujący mleko zgodnie z własnym systemem chowu uznali, w równym procencie (po $\pm 45\%$) że stosują niskie nakłady i niższą produkcję, albo wyższy nakład i wyższy poziom produkcji. Przeciętna produkcja mleka wynosiła 18.2 l /krowę/dziennie (wahania od 7.0 do 40.0 l/krowę /dziennie), przeciętna zawartość tłuszczu mleka wynosiła 4.24% a przeciętny poziom białka – 3.54%.

Hala udojowa

Stosuje się różne typy hal udojowych – „swing-over”, „rybia ość” i karuzelowy; są to najczęściej spotykane typy. W Tabelach 1 i 2 porównano etapy rutynowego doju i czynności wykonywane w hali udojowej [5] z danymi międzynarodowymi. Około 50% gospodarstw produkujących mleko stosuje wstępne zanurzanie strzyków w roztworze dezynfekcyjnym, to mniej niż praktyka w niektórych innych częściach świata; a jedna trzecia producentów ani nie poddaja ani nie wyciera strzyków ani /lub nie stosuje rękawic.

Oprócz poszczególnych etapów doju, ważna jest także synchronizacja czasowa pomiędzy tymi etapami [6]. Ustawienie czasu doju było błędne w obrębie gospodarstw i pomiędzy większością odwiedzonych gospodarstw produkujących mleko (Tab.1). Przy idealnym czasie stymulacji wymienia pomiędzy 60 a 120 sekund, w tym zakresie czasu znalazło się tylko 11.1% doju w systemie karuzelowym i 18.2% w innych typach hal udojowych.

Stan zdrowia wymienia

Przeciętna liczba komórek somatycznych w mleku zbiorczym (ang. *bulk milk somatic cell count*, BMSCC) wynosiła $287 \pm 98 \times 10^3$ SD (Standard Deviation, odchylenie standardowe) i była podobna dla różnych systemów chowu i dla regionów (Rys.5). W programie kontroli użyteczności mlecznej uczestniczyło 55 % gospodarstw (Tab.2), co jest więcej niż przedstawiały dane dla przemysłu jako całości ($\pm 20\%$). Około 2/3 producentów mleka zidentyfikowało krowy z podwyższoną liczbą komórek somatycznych (SCC) albo przy badaniu indywidualnych krów i/albo grup (Tab.2). Z tego, 2/3 uważało, że krowy z $SCC \geq 500\ 000$ komórek nadają się do leczenia.

Czystość wymienia podawana w ankiecie była podobna do zanotowanej dla stada podczas wizyty w gospodarstwie. W przeciwieństwie do tego, we wcześniejszym badaniu, w odwiedzonych stadach, stwierdzono większą ilość końcówek strzyków lepiej ocenionych punktowo w porównaniu do stad objętych ankietą [7]. Regularne przystrzyganie włosów na ogonie jest przeprowadzane w około 2/3 (65.2%) gospodarstw produkujących mleko, jednakże tylko 1% informuje o przycinaniu lub opalaniu włosów ze strzyków. [8].

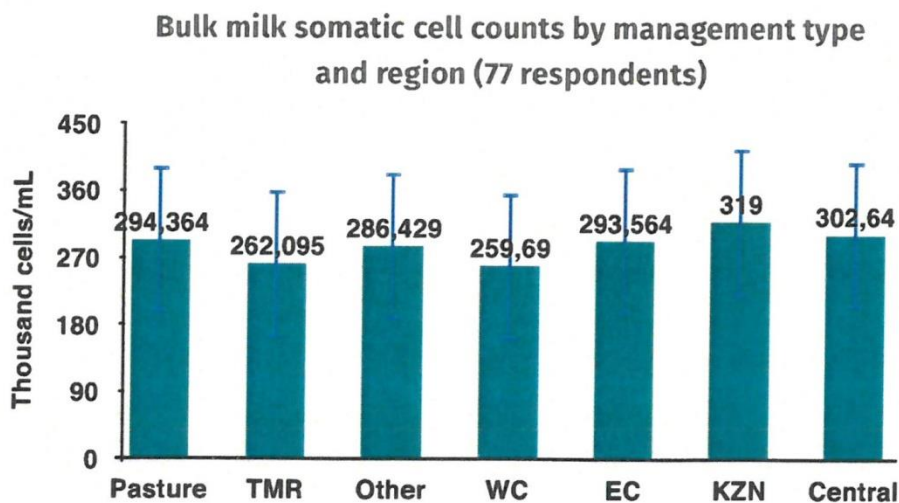


Figure 5 – Bulk milk somatic cell counts on South African dairy farms.

Rys. 5. Liczba komórek somatycznych w mleku zbiorczym w gospodarstwach produkujących mleko w Południowej Afryce według systemu zarządzania gospodarstwem (pastwisko, TMR, inne) i wg regionów (77 respondentów)

Zapalenie wymion (*mastitis*)

Występowanie zapalenia wymion jest o 31.8% wyższe niż 20% - 25% mediana stwierdzana w innych miejscach na świecie [9, 10] i waha się w zakresie 3.5% do 93%. Przeciętny stopień brakowania zwierząt z powodu zapalenia wymion wynosił 6.9% co jest mniejszą wartością niż docelowa górna granica 15% [11] i waha się od 0.7 do 27.8%.

W celu wyizolowania drobnoustrojów i ich identyfikacji pobrano próbki mleka z 29.2% gospodarstw i 20.2% wymagało zbadania ich wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe. W przeciwieństwie do tych danych, w USA, 68% producentów mleka zawsze dostarcza próbki do wyizolowania drobnoustrojów i ich identyfikacji, a część z nich przynajmniej czasami [12]. W niniejszym badaniu, większość producentów mleka leczy zapalenie wymion (*mastitis*) stosując antybiotyki podawane dowymieniowo (86.3%); połowa z nich stosuje także antybiotyki w postaci zastrzyków (49.3 %) (Tab.3).

Trzema najbardziej rozpowszechnionymi wyizolowanymi drobnoustrojami, wywołującymi zapalenie wymion, o których informują przedstawiane raporty, są w kolejności malejącej: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Str. uberis*. W próbkach mleka pobranych od krów w stadach bydła mlecznego w Południowej Afryce stwierdzono obecność koagulazo-ujemnych stafylokoków. *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus agalactiae* były najbardziej powszechne [13].

Jedna piąta producentów mleka w Południowej Afryce informuje o stosowaniu antybiotyków w sposób niezgodny z informacją podaną na opakowaniu (włącznie ze stosowaniem wysokich dawek, krótszych przerw w leczeniu i/lub przedłużonego czasu trwania leczenia) nie zawsze stosując podawanie antybiotyków pod kierunkiem lekarza weterynarii (Tab.3). Skuteczność podawania antybiotyków w formie zastrzyków na poziomie 49.3% musi budzić wątpliwości.

Podejście rolników-producentów mleka do problemu zapalenia wymion przedstawiono na Rys.6, przy czym tylko jedna trzecia producentów mleka uważa, że posiada dostateczną wiedzę na temat *mastitis*, co jest wynikiem podobnym do badań Jansena i wsp. [14].

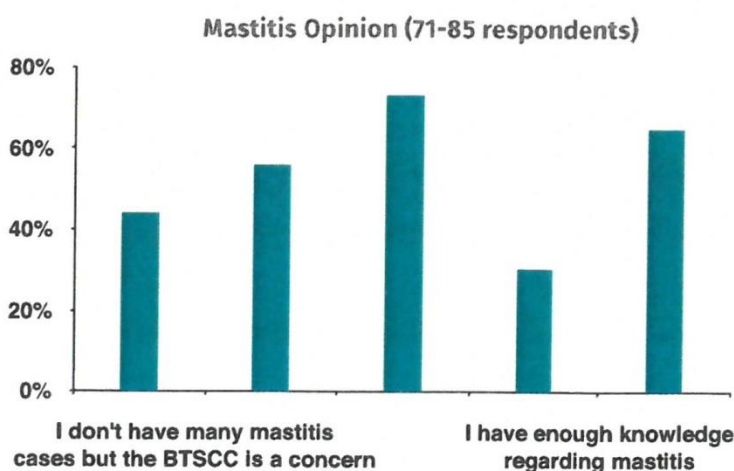


Figure 6 – South African dairy farmer attitudes regarding mastitis.

Rys.6. Podejście rolników – producentów mleka w Południowej Afryce do problemu zapalenia wymion

Po lewej stronie – nie mam do czynienia z wieloma przypadkami zapalenia wymion, ale wysoka liczba komórek somatycznych w mleku zbiorczym stanowi powód do obaw

Po prawej stronie - posiadam wystarczającą wiedzę na temat mastitis

Dodatkową informację, bezpośrednio lub pośrednio powiązaną z zapaleniem wymion przedstawiono w Tab.4, w której pokazano typowe długości okresów zasuszenia i okresów przejściowych. Wyniki wskazują na możliwość żywienia krów wyższymi poziomami witaminy E w okresie przejściowym. (okres przejściowy – 3 tygodnie przed porodem i 3 tygodnie po ocieleniu – przyp. tłum.)

N. Schlimmer¹, L. Leenaerts², H. Hogeveen², M. Van der Leek¹

¹ *University of Pretoria, South Africa*

² *Wageningen University, the Netherlands*

SYNCHRONIZACJA CZASU RUTYNOWEGO DOJENIA (sek ± SD)				
CZAS	Tylko ankietowane (24)	Gospodarstwa (20)	Dojarnie typu karuzelowego (9)	Inne (11)
Wstępne zanurzenie strzyków w roztworze bakteriobójczym (30 sek)	22 ±15	74 ±51	54±31	87±58
Stymulacja wymienia przed nałożeniem kubków udojowych	N/A	92±77	77±65	100±85
Przygotowanie do 1-go dotyku (42-54 sek)	N/A	112±99	73±29	144±127

Tab.1. Czasowa synchronizacja istotnych rutynowych etapów dojenia w gospodarstwach produkujących mleko w Południowej Afryce

PODKLINICZNE ZAPALENIE WYMION – MONITOROWANIE LICZBY KOMÓREK SOMATYCZNYCH - SCC	%
Indywidualna krowa lub grupa (88 respondentów)	67.1
Kiedy zachodzi potrzeba (58 respondentów)	39.7
Dwa razy w roku lub więcej (58 respondentów)	60.3
Próba Kalifornijska (63 respondentów)	51.0
Organizacja badająca mleko (63 respondentów)	49.0
Próbki pobrane z ćwiartek wymienia (46 respondentów)	50.0
Badanie całego stada (83 respondentów)	53.0
Częstotliwość przeprowadzania badania każdego mleka lub części (44 respondentów)	63.6
Rutynowe leczenie krów o wysokiej liczbie SCC w mleku (52 respondentów)	67.3

Tab.2. Dane dotyczące badań podklinicznego zapalenia wymion (mastitis) w Południowej Afryce

LECZENIE I ZAPOBIEGANIE ZAPALENIU WYMION	%
---	----------

Rutynowe leczenie mastitis antybiotykami (79 respondentów)	92.4
Stosowanie antybiotyków dowymieniowo (73 respondentów)	86.3
Stosowanie antybiotyków w postaci zastrzyków (73 respondentów)	49.3
Stosowanie środków przeciwzapalnych (36 respondentów)	63.9
Stosowanie leczenia niezgodnie z zaleceniami stosowania leku (72 respondentów)	19.4
Leczenie niezgodnie z zastosowaniem leku, upoważnione przez lekarza weterynarii (9 respondentów)	33.3
Stosowanie leczenia w okresie zasuszenia (14 respondentów)	88.6

Tab.3. Dane dotyczące leczenia i zapobiegania zapaleniu wymion

PODKLINICZNE ZAPALENIE WYMION – MASTITIS – MONITOROWANIE SCC	%
Długość okresu zasuszenia, dni (87 respondentów)	61.6
Obecność grupy żywienia w okresie przejściowym (110 respondentów)	69.1
Czas trwania okresu przejściowego, dni (66 respondentów)	23.3
Żywienie solami anionowymi w paszy (37 respondentów)	51.4
Pomiar pH moczu (27 respondentów)	18.5
Dodatkowe żywienie witaminą E (68 respondentów)	11.8
Przeciętna liczba dni leczenia (58 respondentów)	6.4
Krowy z zapaleniem wymion trzymane oddzielnie (90 respondentów)	58.9
Mleko od leczonych krów (mleko odpadowe, ang. <i>waste milk</i>) skarmiane cielętami (82 respondentów)	36.6
Szczepienie przeciwko zapaleniu wymion (mastitis) (83 respondentów)	10.8
Korzystanie z usług lekarza weterynarii (106 respondentów)	77.4
Wizyty lekarza weterynarii raz na miesiąc lub częściej (78 respondentów)	64.1
Rozważanie pomocy wykwalifikowanego lekarza weterynarii (mleczarskiego „specjalisty”) (81 respondentów)	82.7
Demografia	
Przeciętna liczba lat pracy w przemyśle mleczarskim (147 respondentów)	23.6
Producenci mleka w wieku < 50 (143 respondentów)	51.8

Właściciele krów będący „pod ręką”, spędzający codziennie czas (godz.) ze swoimi zwierzętami (144 respondentów)	4.36
---	------

Tab.4. Inne interesujące dane związane z zapaleniem wymion u krów, uzyskane na podstawie ankiety

LITERATURA

1. Milk Producers' Organization (2017) [online] available: <http://www.mpo.co.za/Accessed 9 October 2017>
2. Milk SA (2017) Lactodata, a Milk SA publication compiled by the Milk Producers' Organization, vol. 20 (1) [online] available: <http://www.milksa.co.za/reports/lacto-data-may-2017> Accessed 9 October 2017
3. iPrep.Lauren Agrisystems (2017) [online] available: <https://itunes.apple.com/us/app/iprep/id4140254997mt=8> Accessed 25 April 2017
4. Johnson, D., (2005) Reduced input dairy farming may be an option. [online] available: <http://www.extension.umn.edu/agriculture/dairy/reducedinput/reduced-input-may-be-an-option/Accessed 25 April 2017>
5. Ingalls, W. (2006) Procedures and products required for milking center efficiency, mastitis control, and production of high quality milk. Delaval milkproduction.com [online] available: <http://www.milkproduction.com/library/scientific-articles/milk—milking/procedures-and-products-required-for milking center-of-efficiency-mastitis-control-and-production-of-high-quality-milk/Accessed 25 April 2017>
6. Schulte, H.F., iii. Quality milk production services, parlor efficiency, [online] available: <https://ahdc.vet.cornell.edu/sects/qmps/farmservices/parlorefficiency/cfm> Accessed 25 April 2017
7. Lam, T.J.G.M., van Veersen, J.C.L., Sampimon, O.C. and Riekerink, R.O. (2011) On-farm udder health monitoring. Tierärztliche praxis großtiere, 39 (2) pp. 95-100
8. Dufour, S., Fréchette, A., Barkema, H.W., Mussell, A., and Scholl, D.T. (2011) Invited review: effect of udder health management practices on herd somatic cell count. Journal of Dairy Sci., 94 (2) pp. 563-579
9. Cornell University, College of Veterinary Medicine (2014) mastitis module – veterinary resource materials. [online] available: <https://ahdc.vet.cornell.edu/programs/nyschap/modules/mastitis/mastitissection2.cfm>. Accessed 7 May 2017
10. Riekerink, R.O., Barkema, H.W., Kelton, D.F. and Scholl, D.T. (2008) Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. Journal of Dairy Sci., 91 (94) pp. 1366-1377
11. Jones, G.M. (2009) Guidelines to culling cows with mastitis. [online] Available: <https://www.pubs.ext.vet.edu/404/404-204/404-204.html> Accessed 7 May 2017
12. Constable, P.D. and Morin, D.E. (2003) Treatment of clinical mastitis; using antimicrobial susceptibility profiles for treatment decisions. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 19 (1) pp. 139 – 155
13. Petzer, I – M., Karzis, J., Watermeyer, J.C., van der Schans, T.J., van Renen, R. (2009) Trends in udder health and emerging mastitogenic pathogens in South Africa dairy herds. Journal of South African Veterinary Association, Vol. 80 No. 1.

14. Jansen, J. Van den Borne, B.H.P., Renes, R.J., van Schaik, G., Lam, T.J.G.M., and Leeuwis, C. (2009). Explaining mastitis incidence in Dutch dairy farming: the influence of farmers' attitudes and behaviour. *Preventive Veterinary Medicine* 92 (3) pp. 210 – 223.

SPRAWOZDANIA Z PRAC DOKTORSKICH

Selektywne leczenie mlecznych krów w okresie zasuszenia

„Nastawienie rolników i lekarzy weterynarii wobec zmniejszenia stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych ma kluczowe znaczenie dla pomyślnej realizacji strategii selektywnej terapii krów w okresie zasuszenia”

Christian Scherpenzeel

Od dziesiątek lat, stan zdrowia wymienia wiążący się z określonym postępowaniem w przypadku ogólnego zapalenia wymion u krów w okresie zasuszenia (ang. *blanket dry cow treatment*, BDCT) jest istotnym zagadnieniem. Od ponad 50 lat, aby uchronić wymię krowy od nowych wewnętrznych zakażeń w okresie zasuszenia, zaleca się terapię BDCT jako najlepszy sposób leczenia krowy i część oceny wg pięciopunktowego programu zapobiegania zapaleniu wymion. Program ten ma na celu zmniejszenie występowania zakażeń wewnątrz wymienia poprzez eliminację zakażeń już występujących przy zasuszaniu i poprzez zapobieganie powstawaniu nowych zakażeń podczas okresu zasuszenia. W Holandii, już od 2012 roku, w medycynie weterynaryjnej, jest zabronione zapobiegawcze stosowanie środków przeciwdrobnoustrojowych. Dlatego też, metoda BDCT została zastąpiona przez leczenie tylko zakażonych krów, znane jako „selektywne leczenie zasuszonych krów” (ang. *selective dry cow treatment*, SDCT). Chociaż wybór krów jest ważną częścią SDCT i ma duży wpływ na dalsze konsekwencje, nie istnieje zbyt wiele badań na ten temat. Wobec tego, dokonano oceny wpływu różnych metod podejścia do wyboru zasuszonych krów do leczenia na podstawie takich parametrów jak stan zdrowia wymienia, stosowanie środków przeciwdrobnoustrojowych (ang. *antimicrobial use*, AMU) oraz zagadnienia ekonomiczne.

W niniejszej rozprawie doktorskiej dokonano ilościowej oceny wpływu selektywnej terapii (SDCT, patrz powyżej) na kliniczne i podkliniczne zapalenie wymion, stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych AMU, konsekwencji ekonomicznych stosowania tych środków oraz oceny postawy rolników-producentów mleka. Dokonano także oceny wpływu różnych wariantów dotyczących progowej wartości liczby komórek somatycznych (SCC) przy wyborze krów do zastosowania omawianej terapii na podstawie niniejszych parametrów.

Wpływ selektywnej terapii oceniono u 1 657 krów w 97 holenderskich stadach mlecznych, które wszystkie wykazywały przed zasuszeniem niską liczbę komórek somatycznych, SCC, w zapisach ostatniej kontroli użyteczności mlecznej. Zastosowano następujący układ doświadczalny: rozdział poszczególnych ćwiartek wymienia, w którym dwie ćwiartki u każdej krowy były leczone środkami przeciwdrobnoustrojowymi, a dwie pozostałe ćwiartki pozostawały nieleczone próbkami kontrolnymi. Dla pierwiastek, liczba komórek somatycznych na poziomie <150 000 komórek/ml została określona jako niska, a dla wieloródek < 250 000 komórek/ml [1].

Stwierdzono, że stopień występowania klinicznego zapalenia wymion był 1.7 razy wyższy w ćwiartkach zasuszanych bez środków przeciwdrobnoustrojowych w porównaniu do ćwiartek zasuszanych z zastosowaniem tych środków. W obu grupach, *Streptococcus uberis* był

przeważającym organizmem powodującym kliniczne zapalenie wymion. Liczba SCC (pol. liczba komórek somatycznych, LKS – przyp.tłum) przy ocieleniu i w 14 dniu laktacji była znacznie wyższa w ćwiartkach zasuszonych bez środków przeciwdrobnoustrojowych (odpowiednio 772 000 komórek somatycznych/ml i 46 000 komórek/ml). Ćwiartki wymienia z podwyższoną liczbą SCC lub ćwiartki z obecnością głównych organizmów chorobotwórczych przy zasuszeniu były narażone na wyższe ryzyko obecności komórek somatycznych SCC powyżej 200 000 komórek/ml w porównaniu do ćwiartek z niską liczbą SCC i nieobecnością głównych organizmów chorobotwórczych przy zasuszeniu. Dla ćwiartek, w których przy zasuszeniu były obecne ważniejsze organizmy chorobotwórcze, stwierdzono także trend w kierunku wyższego stopnia ryzyka *mastitis* [1].

Selektywne leczenie zasuszonych krów, bez stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych (*antimicrobial use*, AMU) u krów, które miały niską liczbę komórek somatycznych - SCC w ostatnich zapisach kontroli użytkowości mlecznej przed zasuszeniem, znacznie zwiększało stopień występowania klinicznego zapalenia wymion i liczby SCC po ocieleniu. Obniżenie stosowania AMU (środki przeciwdrobnoustrojowe) poprzez niestosowanie SDCT (selektywna terapia zasuszonych krów) nie było rekompensowane przez wzrost stosowania AMU w leczeniu klinicznego zapalenia wymion. Całkowite stosowanie środków przeciwdrobnoustrojowych (AMU) w odniesieniu do *mastitis* zmalało o 85% w omawianych ćwiartkach [1].

Chociaż różnice były niewielkie, z ekonomicznego punktu widzenia BDCT nie było optymalnym podejściem DCT (dry cow therapy, terapia krów w okresie zasuszenia – przyp. tłum.). W stadach o niskiej liczbie komórek somatycznych w próbkach mleka zbiorczego, można było ominąć stosowanie większej ilości środków przeciwdrobnoustrojowych u zasuszonych krów bez konsekwencji ekonomicznych, prowadząc do obniżenia kosztów. Stwierdzono, że ekonomiczny skutek zredukowania procentowej ilości przypadków klinicznego zapalenia wymion był dużo wyższy niż efekt zredukowania liczby SCC w mleku zbiorczym. Optymalna procentowa ilość krów, które byłyby zasuszone przy podaniu środków przeciwdrobnoustrojowych zależy od sytuacji zdrowotnej wymienia, wskazanej przez liczbę SCC w mleku zbiorczym oraz występowanie klinicznego zapalenia wymion. Dla wszystkich ocenianych typów stad, to selektywne leczenie krów SDCT było ekonomicznie bardziej korzystne niż ogólne leczenie BDCT, w szczególności jeśli wartości liczby SCC w mleku zbiorczym i występowanie klinicznego zapalenia wymion (*mastitis*) były niższe. Wobec tego, nie ma dowodu, że zmiana rutynowego postępowania BDCT na obniżenie stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych (AMU) poprzez zastosowanie selektywnej terapii SDCT [3] jest szkodliwa z ekonomicznego punktu widzenia.

W Holandii, poprzez kwestionariusz uzyskano więcej informacji na temat poziomu stosowania selektywnej terapii SDCT. Głównym kryterium wskazanym przez rolników w wyborze krów do terapii zasuszonych krów DCT była historia liczby komórek somatycznych SCC podczas pełnego okresu poprzedniej laktacji. Nie było istotnych różnic w parametrach stanu zdrowia wymienia pomiędzy stadami, które stosowały BDCT lub SDCT, ani pomiędzy stadami z SDCT z wysokim lub niskim stosowaniem środków przeciwdrobnoustrojowych u zasuszonych krów. Ogólnie, stosowanie tych środków (AMU) było wyższe w stadach, które stosowały BDCT,

choć nie było istotnych różnic w leczeniu dowymieniowym przy użyciu środków przeciwdrobnoustrojowych innych niż terapia DCT [4].

WNIOSKI

Niniejsza rozprawa wykazała, że redukcja stosowania środków przeciwdrobnoustrojowych (AMU) przy zasuszeniu krów prowadzi do zwiększonego ryzyka zapalenia wymion na poziomie indywidualnym. Jednakże, efekt na poziomie stada był bardzo mały. Kryteria zastosowane do wybrania krów do terapii DCT miały ograniczony wpływ na stan zdrowia wymienia, podczas gdy wpływ na ilość AMU był duży. Stwierdzono, że aspekt ekonomiczny nie był argumentem, aby nie obniżać stosowania DCT poprzez selektywną terapię zasuszonych krów, ponieważ prawie we wszystkich scenariuszach, terapia selektywna SDCT była ekonomicznie korzystniejsza w porównaniu do terapii ogólnej BDCT.

Wydawało się, że stosowanie terapii selektywnej SDCT (selective dry cow therapy) było powiązane z podejściem rolników-producentów mleka i lekarzy weterynarii do takiego postępowania. Ich sposób myślenia ukierunkowany na obniżenie stosowania AMU jest kluczowy dla pomyślniej realizacji strategii SDCT (selektywnej terapii krów w okresie zasuszenia- przyp. tłum.)

C. Scherpenzeel, DVM, PhD

GD Animal Health, Deventer

The Netherlands

c. scherpenzeel@gdanimal@gdanimalhealth.com.

LITERATURA

1. Scherpenzeel, C.G.M., den Uijl, I.E.M., van Schaik, G., Olde Riekerink, R.G.M., keurentjes, J.M., Lam, T.J.G.M. (2014) Evaluation of the use of dry cow antibiotics in low somatic cell count cows. *Journal of Dairy Science* 97: 3606-3614
2. Scherpenzeel, C.G.M., den Uijl, I.E.M., van Schaik, G., Olde Riekerink, R.G.M., Hogeveen, H., Lam, T.J.G.M. (2016) Effect of different scenarios for selective dry-cow therapy on udder health, antimicrobial usage, and economics. *Journal of Dairy Science*, 99: 3753 – 3764
3. Scherpenzeel, C.G.M., Tijs, S.H.W., den Uijl, I.E.M., Santman-Berends, O.M.G.A., Velthuis, A.G.J., Lam, T.J.G.M., (2016) Farmers' attitude toward the introduction of selective dry cow therapy. *Journal of Dairy Science*, 99:8259-8266
4. Scherpenzeel, C.G.M., Hogeveen, H., Maas, L., Lam, T.J.G.M. (2018) Economic optimization of selective dry cow therapy. *Journal of Dairy Science* 101: 1530 – 1539
5. Scherpenzeel, C.G.M., Santman-Berends, L.M.G.A., Lam, T.J.G.M. (2018) Veterinarians' attitude towards antimicrobial use and selective dry cow treatment in the Netherlands. *Journal of Dairy Science* 101: 6336-6345

Ocena genetyczna podatności na zapalenie wymion i powracalności do zdrowia w przypadku zapalenia wymion u krów mlecznych

„Liczbę komórek oceniano licznikiem komórek. Odkrycia dokonane w niniejszej pracy wskazują, że powracalność do zdrowia jest odziedziczalna, tak jak podatność na *mastitis*, sugerując, że cechę tę można udoskonalić poprzez hodowlę.”

Berihu Welderufael

Mastitis – reakcja zapalna na zakażenie wymienia krowy – jest rozpowszechnioną chorobą i ma znaczny ujemny wpływ na dobrostan zwierząt jak i na ekonomiczne aspekty dla przemysłu mleczarskiego. Mimo wielu działań zapobiegawczych, zapalenie wymion pozostaje jednym z najbardziej powszechnych schorzeń u krów mlecznych. W sytuacjach jakiegokolwiek wysokiego poziomu występowania choroby, takiej jak *mastitis*, wybór zwierząt rokujących powrót do zdrowia powinien wobec tego stanowić przedmiot zainteresowania. W niniejszej rozprawie doktorskiej [1] badano sposób poprawy oceny genetycznej stanu zdrowia wymienia poprzez wprowadzanie metod i modeli, mogących wykorzystać informacje zawarte w materiałach dotyczących możliwości powrotu zwierząt do zdrowia po zapaleniu wymion jak i w materiałach na temat podatności na tę chorobę.

Na początku projektu pracy doktorskiej [1], przeprowadzono rozległe analizy symulacyjne w celu opracowania dwu-wariantowego modelu dla wspólnej oceny genetycznej podatności krów na *mastitis* jak i powracalności do zdrowia tych zwierząt. Symulowano przypadki wystąpienia zapalenia wymion, określane liczbą komórek somatycznych w 1 mililitrze mleka (typowo stosowane jako wskaźnik *mastitis*) oraz zastosowano model przejściowy do określenia badanych cech genetycznych. Stan zapalny określony na podstawie liczby komórek somatycznych (ang. somatic cell count, SCC) oraz stan zdrowotności przekształcono w dwie serie wskaźników przejściowych: jeden wskaźnik dla stanu zdrowego zwierzęcia do przejścia do stanu chorego (HD, aby określić podatność na zapalenie wymion) oraz drugi dla zwierzęcia chorego do przejścia do stanu zdrowego (DH, dla określenia powracalności do zdrowia). Cechy genetyczne analizowano przy użyciu dwuwariantowego modelu progowego reproduktora, stosując statystyczne podejście Bayesa w podejmowaniu decyzji (ang. *decision making unit* - przyp. tłum.) Badanie [1] wykazało, że obie cechy można wspólnie modelować, a symulowane warunki prawidłowo odtworzyć.

W drugim badaniu projektu pracy doktorskiej [3], zastosowano dwuwariantowy model poprzez symulację z dodanymi systematycznymi efektami i funkcją czasu w odniesieniu do danych uzyskanych z duńskiej bazy danych o stadach mlecznych podłączonych do robotów udojowych VMS (ang. Voluntary Milking System, de Laval International AB, Tumba, Szwecja). Liczbę komórek somatycznych (SCC) mierzoną licznikiem komórek przymocowanym do robotów udojowych analizowano w nowy sposób, stosując analizę czasu i zdarzenia. Odkrycia dokonane w niniejszej pracy wskazują, że powracalność do zdrowia jest odziedziczalna, tak

jak podatność (Rys.1), sugerując, że cechę tę można udoskonalić poprzez hodowlę. Korelacja genetyczna pomiędzy podatnością na mastitis i powracalnością do zdrowia wynosiła -0.83 , sugerując, że krowy, które są odporne na zapalenie wymion także szybciej powracają do zdrowia.

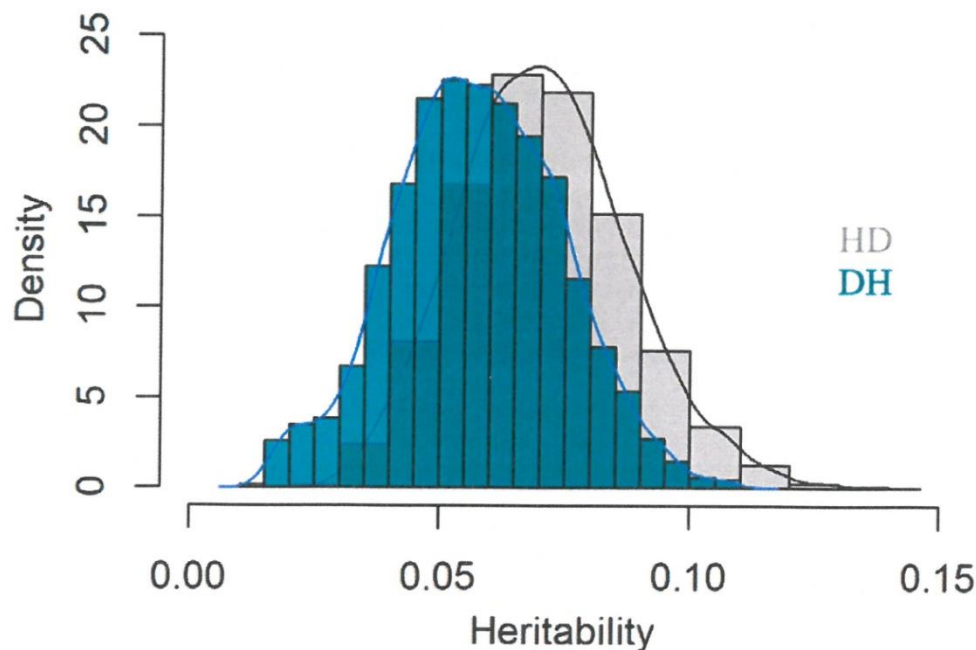
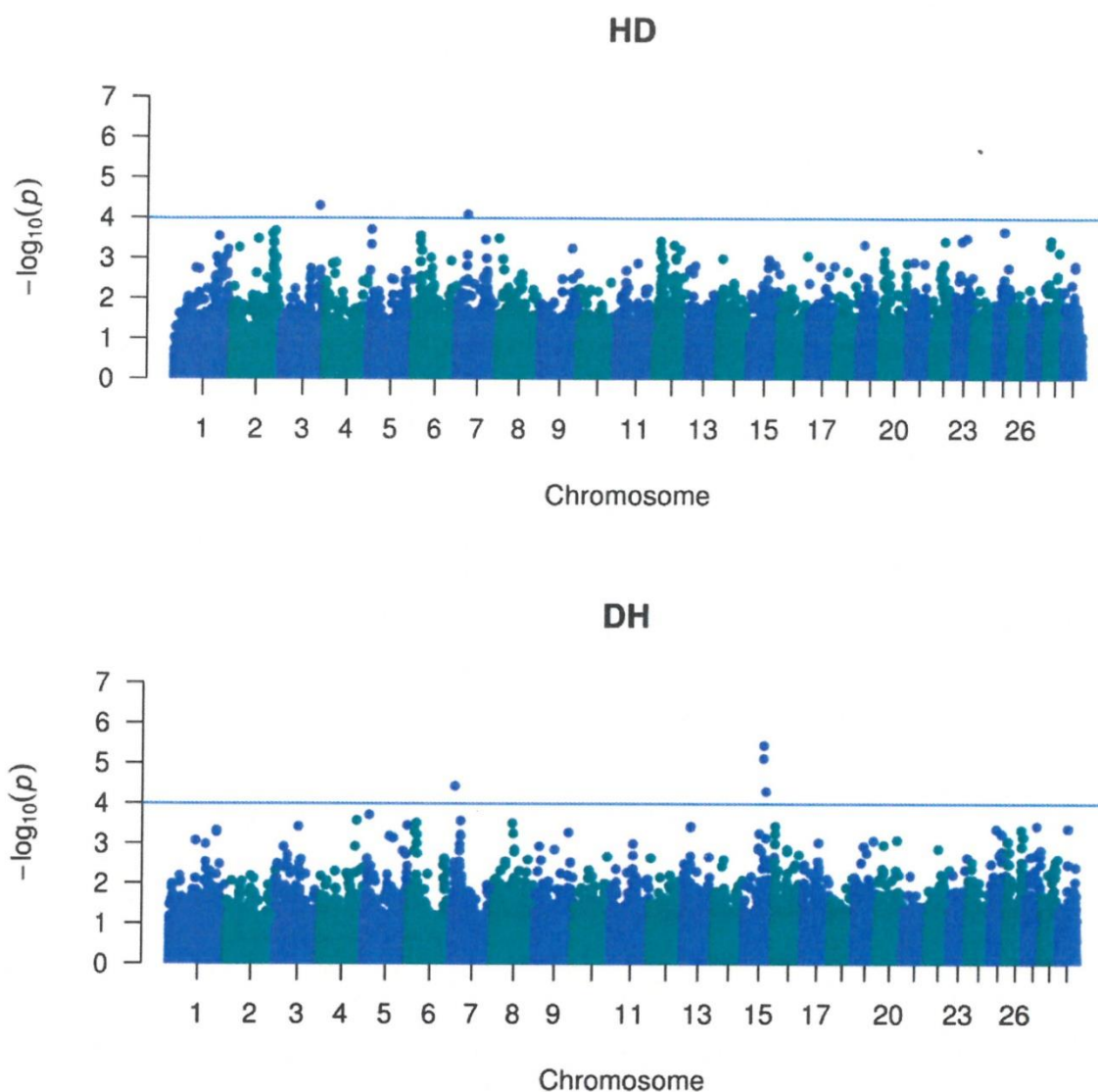


Figure 1 – Posterior distributions of heritability estimates from a Markov chain Monte Carlo sample size of 5,000 for susceptibility (HD, gray and overlapped area) to - and recoverability (DH, blue and overlapped area) from mastitis.

Rys.1. Rozmieszczenie oceny szacunkowej odziedziczalności na podstawie pobierania próbek (5,000 próbek) metodą Monte Carlo łańcucha Markowa (w statystyce – klasa algorytmów pobierania próbek z rozkładu prawdopodobieństwa – przyp. tłum.) dla podatności (HD, szary i nakładający się obraz) i powracalności do zdrowia (DH, niebieski i nakładający się obraz) w przypadku zapalenia wymion (mastitis); density – gęstość; heritability – odziedziczalność

W trzecim badaniu [4] przeprowadzono rozległe badania na poziomie genomu w celu znalezienia w nim pozycji, które mają wpływ na HD (podatność na chorobę) i/lub DH (powracalność do zdrowia). Przeprowadzono analizę regresji pojedynczego SNP (ang. *single nucleotide polymorphism*, SNP – polimorfizm pojedynczego nukleotydu, zjawisko zmienności sekwencji DNA, polegające na zmianie pojedynczego nukleotydu – przyp. tłum.), a efekt zastąpienia każdego SNP przebadano przy zastosowaniu t-testu. W przeciwieństwie do zaobserwowanej wysokiej ujemnej korelacji genetycznej w drugim badaniu, sygnały powiązań mapowano w różnych lokalizacjach, sugerując, że cechy genetyczne można by regulować różnymi genami. Ponadto, złożoność tych cech została zmanifestowana przy braku silnych sygnałów połączeń (Rys.2), sugerując, że w obydwóch kierunkach omawianej choroby mogły być zaangażowane liczne geny dające mały efekt.



Rys. 2 –Wykres Manhattan dla powiązań na poziomie genomu wraz z podatnością (HD) na zapalenie wymion i powracalnością do zdrowia (DH) po tej chorobie. Niebieska linia przedstawia silny wpływ na poziom istotności $[-\log_{10}(\text{wartość } P) = 4]$ [4].

W końcowej części pracy doktorskiej [5] wprowadzono bardziej dynamiczną klasyfikację stanu zdrowotnego wymienia, biorącą pod uwagę możliwość ostrości ewentualnego zakażenia. Znaczne wahania genetyczne wykryto u krów zaklasyfikowanych do klas stanu zdrowia na dłuższy okres czasu, podczas gdy wahania w klasach zdrowotnych określanych jako krótkoterminowe oraz zmiany nagłe (n.p. ostre) przypisywano głównie czynnikom środowiskowym.

Chociaż podatność na zapalenie wymion oraz powracalność do zdrowia po tej chorobie są ściśle ujemnie skorelowane, powracalność do zdrowia ma podobny rozmiar komponentu genetycznego co podatność i może być uważana za nową cechę selekcji w genetyce. Modelowanie i analizy genetyki powracalności do zdrowia mogłyby przynosić szczególną korzyść w sytuacjach wysokiego stopnia zakażenia. Projekt zawarty w pracy doktorskiej

wprowadził metodę połączonej oceny wartości genetycznej dla podatności na *mastitis* i powracalności do zdrowia po tej chorobie. W odniesieniu do wprowadzenia powracalności do zdrowia lub modelowania obu kierunków zapalenia wymion, niniejsza rozprawa stanowi nowość w dziedzinie oceny genetycznej stanu zdrowia zwierząt. Niniejsze innowacyjne modelowanie i podejście, jeśli zostanie zaakceptowane, powinno wzmocnić ocenę genetyczną danych o chorobie poprzez zdolność uchwycenia czasowo zależnych i dodatkowych informacji nie tylko z zakresu podatności na zapalenie wymion, ale także powracalności do zdrowia po danej chorobie, a w szczególności *mastitis*.

Projekt doktorski [5] był częścią połączonego programu doktorskiego Erasmus Mundus 'EGS-ABG: European Graduate School in Animal Breeding and Genetics'.

B.G. Welderufael

College of Dryland Agriculture and Natures

Resources, Ethiopia

Berihu.welderufael@gmail.com

LITERATURA

1. Welderufael, B.G., de Koning, D.J., Janss, L.L.G., Franzen, J. & Fikse, W.F. (2017a) Simultaneous genetic evaluation of simulated mastitis susceptibility and recovery ability using a bivariate threshold sire model. *Acta Agric. Scand. A Anim. Sci.* <https://doi.org/10.1080/09064702.2016.1275761>.
2. Madsen, P. & Jensen, J. (2013) A User's Guide to DMU. A Package for Analysing Multivariate Mixed Models. Version 6, release 5.2. <https://dmu.agrsci.dk/DMU/>.
3. Welderufael B.G., Janss, L.L.G., de Koning, D.J., Sorensen, L.P., Lovendahl, P. & Fikse, W.F. (2017b) Bivariate threshold models for genetic evaluation of susceptibility to and ability to recover from mastitis in Danish Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 100 (9): 4706 – 4720.
4. Welderufael, B.G., Lovendahl, P., de Koning, D.J., Janss, L.L.G. & Fikse, W.F. (2018) Genome-wide Association Study for Susceptibility to and Recoverability from Mastitis in Danish Holstein Cows. *Front. Genet.* 9:141, doi: 10.3389/fgene.21018.00141
5. Welderufael, B.G. (2017) Genetic Evaluation of Susceptibility to – and Recoverability from Mastitis in Dairy Cows. PhD Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.

Badanie próbek mleka w wykrywaniu aktualnych zakażeń *Mycoplasma bovis* w stadach bydła mlecznego natrafia na trudności

„Odkrycia uzyskane w niniejszej pracy są istotne dla przemysłu mleczarskiego, ponieważ podkreślają one trudności w diagnozowaniu *M. bovis* w stadach bydła mlecznego, gdy bada się głównie próbki mleka”

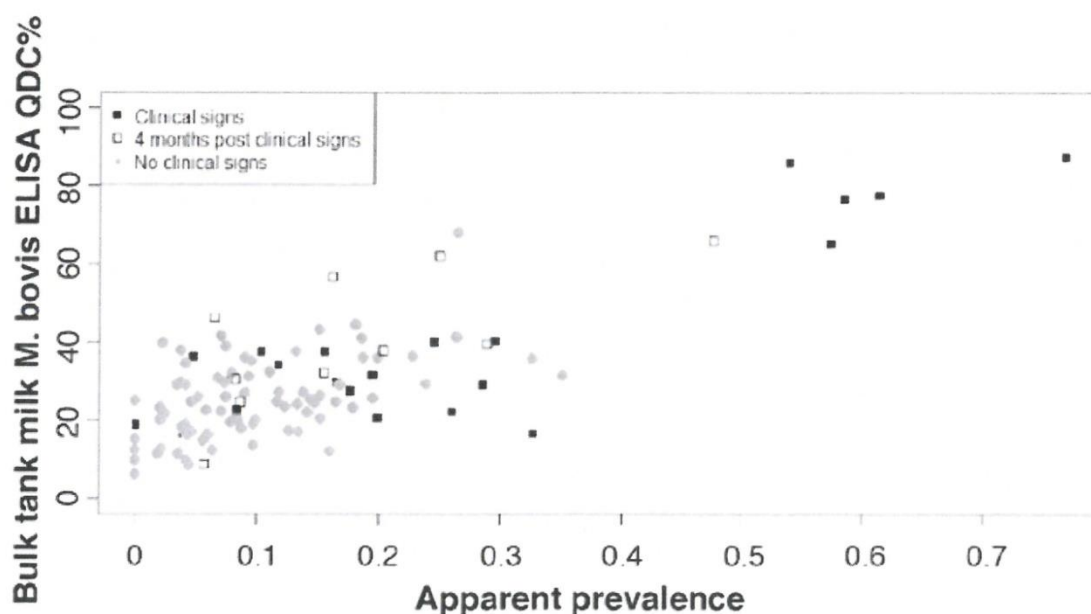
Mette Bisgaard Petersen

Szczep *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) jest niewielkim drobnoustrojem zdolnym do wywołania choroby u bydła w każdym wieku. Szczep ten jest częścią zespołu choroby układu oddechowego u bydła i wiąże się z zapaleniem stawów (*arthritis*) i zapaleniem ucha (*otitis*) u cieląt. U krów, zazwyczaj powoduje klinicznie zapalenie wymion (*mastitis*) i zapalenie płuc, przy czym informuje się o coraz częstszym występowaniu zapalenia stawów. Od pierwszego wyizolowania szczepu w 1961 roku w Stanach Zjednoczonych, omawiany szczep rozprzestrzenił się w wielu krajach, a obecnie powoduje epidemię w wielu regionach, włącznie z Europą. W ciągu ostatnich dwudziestu lat, zwrócono uwagę na szczep *M. bovis* z powodu jego widocznej rosnącej obecności, nasilonej ostrości objawów klinicznych oraz większej oporności na antybiotyki stwierdzonej u *M. bovis*, wyizolowanego z próbek mleka. Tradycyjnym sposobem diagnozowania szczepu *M. bovis* jest wyizolowanie go z mleka lub z innych płynów ustrojowych. Jednakże, poszukuje się łatwiejszych i mniej kosztownych testów diagnostycznych do stosowania u krów z zapaleniem stawów lub z innymi objawami klinicznymi chorób układowych wiążących się z *M. bovis*. W Danii, w badaniach krów mlecznych na występowanie innych chorób, często stosuje się próby serologiczne takie jak test ELISA, ponieważ testy te są stosunkowo niedrogie w przeliczeniu na jeden test, oraz wygodne w wykonaniu, szczególnie jeśli stosuje się do próbek mleka rutynowo pobieranych do innych celów.

Badanie czynników wpływających na pomiar gęstości optycznej (*optical density measure*, ODC, %) ¹ w teście ELISA dla *M. bovis*, które podaje poziom przeciwciał przeciwko *M. bovis* w mleku zbiorczym w tanku (ang. *bulk milk tank*, BTM), wykazało, że występowanie omawianego szczepu w mleku u krów w okresie laktacji było skorelowane z poziomem gęstości optycznej mleka zbiorczego w tanku (BTM ODC %). Dla każdego 10-procentowego wzrostu występowania tego szczepu w mleku od krów w okresie laktacji, z dodatnim wynikiem testu w mleku, wartość gęstości optycznej mleka zbiorczego w tanku (BTM ODC %) podwyższała się przeciętnie o 9 ODC% (9 procent wartości gęstości optycznej) [1]. Zaczęło być widoczne, że rolnicy-producenci mleka informowali o objawach klinicznych wynikających z obecności *M. bovis* w stadach nawet w okresie pomiarów, gdy uzyskiwali

¹ Bio X Bio K 302 ELISA kit, Bio X Diagnostics, Belgium

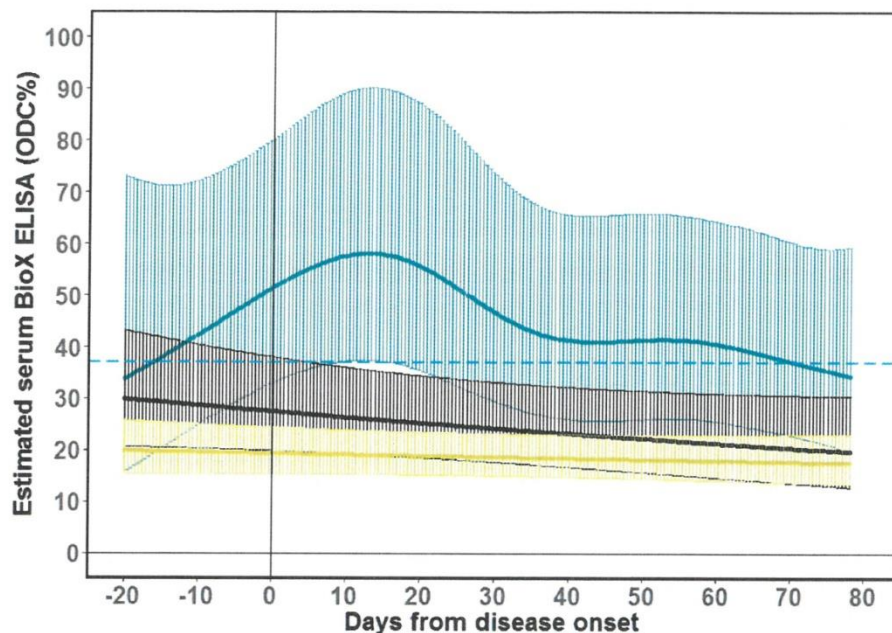
niskie wartości procentowe gęstości optycznej ODC% w mleku zbiorczym w tankach (Rys.1). Aby prześledzić wyjaśnienia zaobserwowanej dynamiki pomiaru gęstości optycznej mleka zbiorczego w tankach BTM OCD % oraz powiązania ze schematami omawianego zakażenia, nakazano badania odpowiedzi przeciwciał u poszczególnych krów z różnymi objawami klinicznymi.



Rys.1. Statystyka opisowa pokazująca pomiar gęstości optycznej (IDC%) w mleku zbiorczym z tanku, z *M. bovis*, w badaniu testem ELISA w porównaniu do widocznego występowania *M. bovis* w mleku od krów w okresie laktacji z dodatnimi przeciwciałami. Modyfikacja na podstawie rys. 2 w pracy: Petersen i wsp., 2016, Factors associated with variation in bulk tank milk *Mycoplasma bovis* antibody-ELISA results in dairy herds. J. Dairy Sci., 99: 3815-3823

Powyższe zjawisko obserwowano w długotrwałych badaniach w czterech stadach mlecznych z ostrym występowaniem choroby powiązanej z *M. bovis*. Krowy podzielono na różne grupy w oparciu o zaobserwowane objawy kliniczne, a schematy odpowiedzi przeciwciał w surowicy i w mleku były powiązane z czasem zaobserwowania pierwszych objawów. Odpowiedź przeciwciał mierzona w teście ELISA² była ogólnie bardzo dynamiczna, krótkotrwała i zależna od zaobserwowanych objawów klinicznych. Nawet u krów z chorobą układową, przeciętny szacowany wynik badania ELISA ODC% znajdował się poniżej zalecanego limitu przy 37 ODC % 60 – 70 dni po zaobserwowaniu po raz pierwszy objawów klinicznych (Rys.2). Zjawisko to powoduje, że odpowiedź przeciwciał na *M. bovis* jest o wiele bardziej dynamiczna niż reakcja zaobserwowana dla innych chorób i oznacza, że konieczne jest częste monitorowanie w celu wykrycia powstającego zakażenia *M. bovis* w stadzie [2].

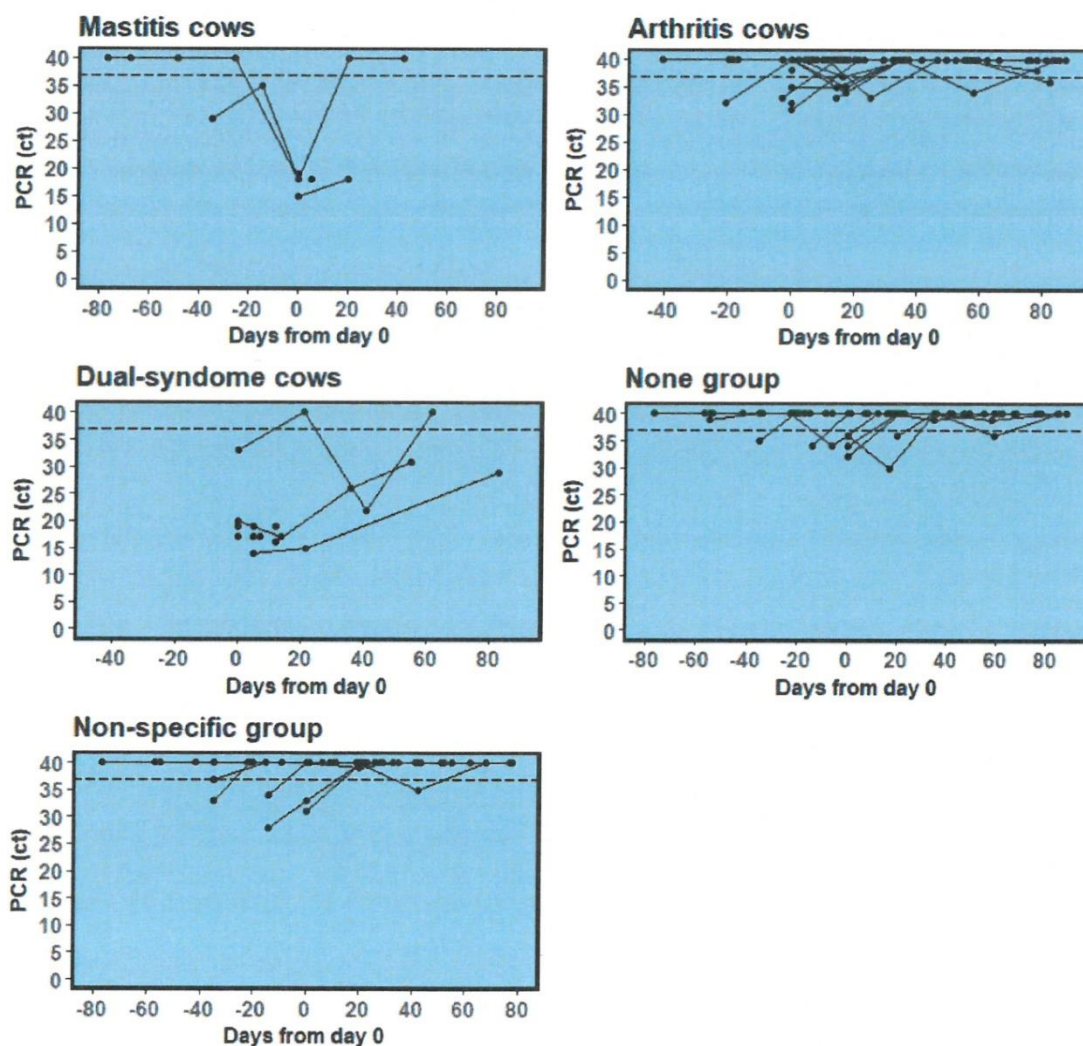
² PathoProof Major-3 PCR kit, Thermofischer Scientific, USA



Rys.2. Szacowana średnia odpowiedź przeciwciał w surowicy (linia ciągła) i 95% przedział ufności (obszar zacieniony) uzyskane przy użyciu testu BioX ELISA Bio K 302. Barwa czerwona reprezentuje grupę „choroba układowa”, niebieska – „brak choroby”, a czarna to grupa „niespecyficzna”. Czerwona kropkowana linia pokazuje zalecaną granicę w teście ELISA (37 ODC %). Modyfikacja na podstawie Rys. 3 w pracy Petersen et al., 2018: A longitudinal observational study of the dynamics of *Mycoplasma bovis* antibodies in naturally exposed and diseased dairy cows. J. Dairy Sci., <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14340>

Pionowo – Szacowana wartość w teście ELISA (ODC %); Poziomo – Dni od pojawienia się choroby

Wartość ODC % w surowicy była głównie podwyższona u krów z klinicznymi objawami choroby układowej związanej z *M. bovis*, podczas gdy ODC % w mleku było głównie podwyższone u krów z zapaleniem wymion i w próbkach mleka z *M. bovis* z dodatnim wynikiem próby metodą PCR. Niniejsze odkrycia sugerują, że sekrecja przeciwciał wobec *M. bovis* w różnych płynach ustrojowych różni się w zależności od objawów klinicznych, powodując, że próbki mleka są jedynie przydatne w wykrywaniu zakażenia wymion szczepem *M. bovis* [2]. Przeglądając wyniki badań metodą PCR stwierdzono różnice; mimo faktu, że niektóre krowy z zapaleniem stawów (*arthritis*) i z niespecyficznymi objawami klinicznymi lub bez tych objawów znajdowały się poniżej zalecanej granicy PCR przy wartości Ct 37, krowy z zapaleniem wymion były usytuowane zdecydowanie poniżej tej granicy (t.j. wyraźnie dodatnie w próbie metodą PCR) (Rys.3).



Rys.3. Rozmieszczenie wartości progowych dla metody PCR w próbkach mleka w badaniu na obecność *Mycoplasma bovis*, podzielonych na pięć grup chorobowych u krów mlecznych w czterech stadach duńskich. Poziome linie kropkowane pokazują zalecaną granicę PCR (37 ct) w teście ELISA, w którym wynik próbki jest uznany za dodatni. Wyniki od tej samej krowy są połączone liniami. „Krowy z syndromem dwóch chorób”: krowy z objawami klinicznymi zarówno zapalenia stawów jak i zapalenia wymion. „Krowy „bez żadnej choroby””: brak objawów klinicznych, które są prawdopodobnie związane z *M. bovis*. Krowy „niespecyficzne”: objawy kliniczne, które nie są typowe dla *M. bovis*, ale gdzie nie można wykluczyć obecności *M. bovis*.

Days from day 0 – Dni liczone od dnia 0

Powyższe wyniki wskazują, że stosowanie metody PCR do próbek mleka jest także zasadniczo przydatne w wykrywaniu zakażeń wymienia szczepem *M. bovis*, a nie choroby związanej z *M. bovis* lub innych zakażeń.

Odkrycia dokonane w niniejszych badaniach są ważne dla sektora mleczarskiego, ponieważ uwydatniają trudności w diagnozowaniu obecności *M. bovis* w stadach mlecznych,

szczególnie, kiedy głównie bada się próbki mleka. Jeśli polegamy tylko na badaniu próbek mleka, można przeoczyć wiele przypadków, gdyż zarówno próbki od indywidualnych krów jak i próbki mleka zbiorczego odzwierciedlają obecność zakażeń wymienia szczepem *M. bovis*, ale nie wskazują na wszystkie inne syndromy kliniczne u krów. Dlatego też, diagnozowanie obecności *M. bovis* w stadach bydła mlecznego często wymaga oceny zakażenia wymienia jak również chorób układowych u zakażonych zwierząt, na podstawie n.p. oceny przeciwciał w surowicy. Bardzo dynamiczny charakter odpowiedzi przeciwciał na obecność *M. bovis* i wyraźna różnica odnosząca się do innych objawów klinicznych były niejasne wcześniej i wykazywały znaczenie długotrwałych badań podstawowych. Jeżeli brakuje podstawowego rozumienia materiału diagnostycznego lub testów, interpretacja wyników dla różnych celów stanowi wyzwanie, a zalecenia w oparciu o powyższe wyniki mogą być niekompletne lub, w najgorszym przypadku, mogą wprowadzać w błąd.

M. Bisgaard Petersen¹, K. Krogh²

And L. Rosenbaum Nielsen¹

¹ University of Copenhagen, Denmark

² Ceva Animal Health, Denmark

mbp@sund.ku.dk

LITERATURA

1. Petersen, M.B., Krogh, K., Nielsen, L.R. (2016) factors associated with variation in bulk tank milk *Mycoplasma bovis* antibody-ELISA results in dairy herds. Journal of Dairy Science, 99, 3815 – 3823
2. Petersen, M.B., Pedersen, J., Holm, D.L., Denwood, M., Nielsen, L.R. (2018) A longitudinal observational study of the dynamics of *Mycoplasma bovis* antibodies in naturally exposed and diseased dairy cows. Journal of Dairy Science, In pressdoi.org/10.3168/jds.2017-14340