

Analiza czynników wywołujących enzoptyczn bronchopneumonię w stadzie cieląt rasy holsztyńsko-fryzyskiej

Joanna Kołodziejska, Kinga Kośla*

z Koła Medyków Weterynaryjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie

Enzoptyczna bronchopneumonia cieląt – EBC, bovine respiratory disease complex – BRDC) jest najczęściej występującą chorob ukłdu oddechowego u tego gatunku. Dotyczy przede wszystkim cieląt w przedziale wiekowym 1–6 miesięcy (1). Jest ona przyczyn dużyh strat ekonomicznych, które wynikają nie tylko z upadków, ale przede wszystkim z występowania nieodwracalnych zmian w płucach (2, 3). EBC jest powodowana przez wzajemne oddziaływanie czynników pochodzenia środowiskowego i patogenów. Do najważniejszych czynników zakaźnych wywołujących tę chorobę zaliczamy następujące patogeny: herpeswirus bydłęcy typu 1 (BHV-1), wirus parainfluenzy typu 3 (PI-3) i syncytialny wirus ukłdu oddechowego bydła (BRSV) oraz bakterie, takie jak: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* i mykoplazmy (*Mycoplasma bovis*, *M. arginini*; 4, 5, 6, 7). Spośród czynników środowiskowych podstawową rolę w rozwoju EBC odgrywają temperatura, wilgotność oraz stężenie szkodliwych gazów w miejscu przebywania cieląt (8, 9, 10). W okresie jesienno-zimowym obserwuje się wzmożoną zachorowalność na EBC.

Badania prowadzono w listopadzie 2009 r. W badanym stadzie objawy choroby

obecne były u wielu cieląt. Mimo podjętego leczenia jedno zwierzę padło.

Celem pracy by analiza epidemiologiczna występowania objawów klinicznych EBC w stadzie oraz ustalenie, co by głównym czynnikiem wywołującym chorobę.

Materiał i metody

Badaniami objęto stado skłdajce się z 18 cieląt rasy holsztyńsko-fryzyskiej, w wieku od 8 do 166 dni (średnio 76 dni), zlokalizowane w województwie mazowieckim, w okolicach Siedlec. Cielęta przebywały w budynku gospodarczym razem z innymi zwierzętami: jałwkami w stanowiskach typu uwięziowego (22 osobniki) i 3 koñmi, trzymanymi w boksie obok cieląt. Cielęta były podzielone na grupy wiekowe. Cztery najmłodsze były umieszczone w osobnych kojcach o wymiarach 1×1,5 m. Pozostałe przebywały w grupach po 7 osobników w 2 sąsiadujących ze sobą kojcach wielkości 12 m² každy. W budynku gospodarczym, w którym przebywały zwierzęta, podczas badania temperatura wynosiła 9,1°C, natomiast wilgotność względna – 85%.

Wszystkie osobniki zostały przebadane klinicznie wedłg ogólnie przyjętyh zasad oraz poddane badaniom serologicznym. Badanie kliniczne każdego cielęcia by

Analysis of the factors causing enzootic bronchopneumonia of calves in the Holstein–Friesian herd

Kołodziejska J., Kośla K., Scientific Circle of Veterinary Students, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW

This article aims at the analysis of factors involved in enzootic bronchopneumonia of calves. Enzootic bronchopneumonia of calves (EBC) is a form of bovine respiratory disease complex (BRDS), and is the most frequent respiratory disease of cattle. It affects mostly young cattle between 1 and 6 month of age. Due to lungs lesions and mortality it is an economically important disease. Bovine enzootic bronchopneumonia is a multi-factorial disease determined by several factors, both environmental and pathogenic. Different viruses may be involved: bovine herpesvirus-1 (BHV-1), bovine parainfluenza virus-3 (PI-3), bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and many bacteria: *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma arginini*. The environmental factors responsible for development of disease are: temperature, humidity and concentration of harmful gases in a cowshed. In our climate the highest morbidity among calves is observed in fall and winter. Studies took place in the Holstein–Friesian herd during November 2009. An epizootic analysis of respiratory clinical signs in that herd and also determination of the major cause(s) of EBC was performed and results are here presented.

Keywords: enzootic bronchopneumonia of calves, bovine respiratory disease complex, cattle.

przeprowadzone jednorazowo. Obejmowało ono pomiar temperatury w odbytnicy (za gorączkę uznawano temperaturę powyżej 39,6°C), określenie liczby tętna i oddechów, obecność biegunki, ocenę węzłów chłonnych zuchwowych i przedłopatkowych, wygląd słuzawicy, a takż objawy

* Praca wykonana w ramach Sekcji Epidemiologii Koła Medyków Weterynaryjnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie w czasie, gdy autorki były studentkami IV roku, obecnie są lekarzami weterynarii. Opiekunami pracy byli: lek. wet. Michał Czopowicz, lek. wet. Blanka Orłowska i dr Małgorzata Sobczak-Filipiak.

kliniczne wskazujące na zmiany w układzie oddechowym, takie jak: wypływ z noszrzy i jego charakter, obecność kaszlu spontanicznego i jego charakter, obecność duszności, obecność szmerów patologicznych na terenie krtani, tchawicy i klatki piersiowej. Występowanie przynajmniej jednego objawu klinicznego ze strony układu oddechowego uznano za cechę świadczącą o zachorowaniu na EBC.

Następnie pobrano krew z żyły szyjnej zewnętrznej (*v. jugularis externa*) do badań serologicznych w kierunku zakażenia herpeswirusem bydła typu 1 (BHV-1), wirusem parainfluenzy bydła typu 3 (PI-3) i syncytialnym wirusem układu oddechowego bydła (BRSV).

Badania serologiczne przeprowadzone były za pomocą testów immunoenzymatycznych wykorzystujących przeciwciała drugorzędowe znakowane enzymem – peroksydazą chrzanową (indirect ELISA): HerdCheck BHV-1 gE, PI-3 Pourquier® ELISA Serum, Pourquier® RSV ELISA Serum, Pourquier® ELISA RSV IgM.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono w pakiecie statystycznym PASW Statistics wersja 18. Rozkład temperatury ciała cieląt w stadzie analizowano testem chi-kwadrat. Zależność pomiędzy występowaniem przeciwciała a wiekiem cieląt sprawdzono z wykorzystaniem modelu regresji liniowej. Zastosowano dokładny test Fishera w celu wykrycia zależności pomiędzy występowaniem choroby a obecnością przeciwciała przeciwko BRSV, PI-3 i BHV-1. W każdym przypadku przyjęto istotność statystyczną testowania na poziomie 0,05 ($\alpha < 0,05$).

Po 33 dniach od przeprowadzenia badania klinicznego doszło do padnięcia jednego z cieląt (w wieku 133 dni). U tego cielęcia wykonano badanie sekcyjne, podczas którego pobrano materiał do badań histopatologicznego i mikrobiologicznego (wycinki: płuc, węzłów chłonnych, nerek,

grasicy, mięśnia sercowego, mięśnia szkieletowego, wątroby, śledziony i jelit).

Wyniki

Na podstawie objawów klinicznych ze chore na EBC uznano 12 z 18 badanych cieląt. Dodatkowo jedno z badanych cieląt miało biegunkę i podwyższoną temperaturę ciała. Współczynnik chorobowości dla EBC w stadzie wynosił 67%. U 33% cieląt (6 osobników) występowały przynajmniej trzy dowolne objawy kliniczne ze strony układu oddechowego spośród wymienionych: obecność kaszlu spontanicznego, wypływu z noszrzy, duszności, patologicznych szmerów w tchawicy, oskrzelach i płucach (takich jak: świszczczenia, trzeszczenia, rżężenia, pluskania), powiększenie węzłów chłonnych żuchwowych i przedłopatkowych. Wypływ z jamy nosowej i kaszel spontaniczny występowały jednocześnie u 39% cieląt (7 cieląt). Wypływ z noszrzy przednich obserwowano u 39% cieląt i we wszystkich przypadkach miał on charakter surowiczy, surowiczo-śluzowy lub śluzowy. Kaszel spontaniczny obserwowano u 61% cieląt (11 cieląt), przy czym u 50% (9 osobników) był on umiarkowany lub silny. We wszystkich przypadkach miał on charakter suchy. Powiększenie węzłów chłonnych żuchwowych i przedłopatkowych stwierdzono u 22% cieląt. U 44% zwierząt (8 cieląt) słyszalne były patologiczne szmery oddechowe (świszczczenia, trzeszczenia, rżężenia, pluskania), przy czym u ponad połowy z nich (27% – 5 cieląt) dotyczyły one zarówno górnych, jak i dolnych dróg oddechowych. Dusznosc występowała u 39% zwierząt.

Temperatura ciała mierzona w odbytnicy wahała się w zakresie pomiędzy 38,5 a 40,2°C. Wartość średnia, mediana i dominanta były bardzo zbliżone i wynosiły odpowiednio 39,5°C oraz 39,5 i 39,6°C.

Odchylenie standardowe wynosiło 0,46°C. Rozkład temperatury ciała cieląt w stadzie charakteryzował się bardzo niewielką lewostronną skośnością ($A_s = -0,362$) i niewielką kurtozą ($K = -0,045$), co sugerowało, że jest to rozkład normalny. Hipoteza ta potwierdzona została testem chi-kwadrat ($p = 0,543$, $\alpha \leq 0,05$; **ryc. 1**). Temperatura ciała przekraczała 40,0°C u 17% cieląt (3 cielęta) w stadzie i u wszystkich tych cieląt występował jednocześnie wypływ z jamy nosowej i kaszel. Liczba oddechów wahała się w szerokim zakresie pomiędzy 25 a 50/min, a liczba tętna pomiędzy 60 a 130/min.

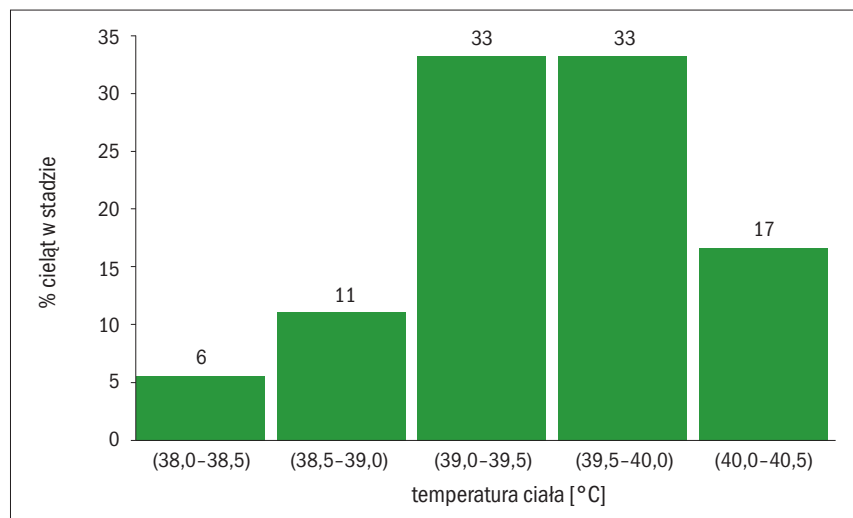
Badania serologiczne wykazały występowanie przeciwciała przeciwko co najmniej jednemu z wirusów u 67% osobników (12 cieląt). Spośród nich 22% (4 zwierzęta) miało przeciwciała przeciwko wszystkim trzem wirusom. Seroprewalencja BRSV wynosiła 50% (9 cieląt z wynikiem dodatnim), PI-3 – 67% (12 cieląt), natomiast BHV-1 – 22% (4 cielęta). Nie stwierdzono występowania u cieląt przeciwciała klasy IgM skierowanych przeciwko BRSV.

Wykazano wysoce istotną zależność statystyczną pomiędzy wiekiem cieląt a mianem przeciwciała przeciwko BRSV i PI-3 (odpowiednio $p = 0,006$ i $p < 0,000$) (**ryc. 2 i 3**). Nie stwierdzono statystycznie istotnych zależności pomiędzy występowaniem choroby a obecnością przeciwciała przeciwko BRSV, PI-3 i BHV-1.

Upadkowość proporcjonalna z powodu EBC (stosunek liczby zwierząt, które padły z powodu EBC do liczby zwierząt w badanej grupie w czasie prowadzonej obserwacji) w badanym stadzie wynosiła 6% (1 z 18 cieląt). Natomiast wskaźnik śmiertelności (stosunek liczby padłych zwierząt na EBC do liczby osobników chorych na tę chorobę w czasie prowadzonych badań) miał wartość 8% (1 z 12 cieląt).

Cielę poddane badaniu sekcijnemu wykazywało wcześniej (w listopadzie) objawy duszności o lekkim i kaszlu o średnim nasileniu. Kaszel miał charakter suchy. Temperatura ciała wynosiła 40,1°C, liczba tętna 80/min, a oddechów 56/min. Zaobserwowano także surowiczy wypływ z noszrzy. Z upływem czasu objawy się nasiliły. Zastosowano typowy schemat leczenia (antybiotyk makrolidowy – tulatromycyna, niesteroidowy lek przeciwzapalny – meloksykam, lek mukolityczny – bromhekyna oraz dożylna terapia płynami).

Badanie sekcyjne wykazało różnorodne zmiany w wielu narządach. Stwierdzono zapalenie włóknikowe płuc i opłucnej oraz obecność zrostów opłucnej i przepony. Zaobserwowano zmiany zapalne krtani i tchawicy. W lewej komorze serca znajdował się skrzep krwi. W jamach opłucnej i otrzewnej występował w znacznej ilości krwistoczerwony płyn. Zanotowano również zastój krwi w wątrobie i śledzionie



Ryc. 1. Rozkład częstości występowania temperatur ciała w stadzie cieląt

oraz zwyrodnienie tłuszczowe wątroby. Widoczne było przekrwienie nerek oraz jelit. Powiększone były węzły chłonne szyjne powierzchowne (lewy 5×1 cm, prawy 6×1 cm) i pachwinowe powierzchowne (lewy i prawy 4,5×0,5 cm). Zauważalna była sinica błon śluzowych.

Wynik badania histopatologicznego był następujący:

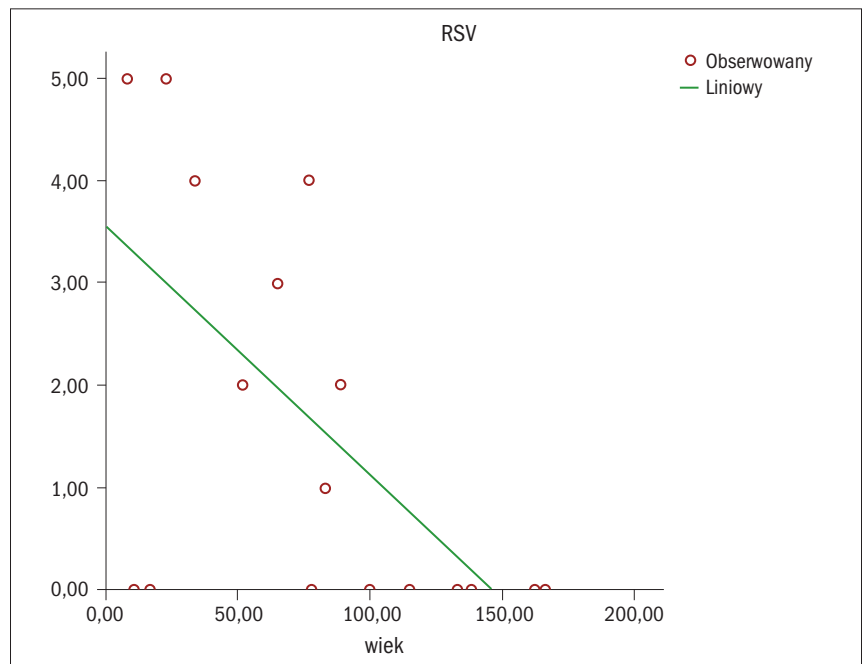
- płuca – zapalenie włóknikowe (stadium zwłóknienia szarego i stadium rozmiękania), ogniska rozrodmy pęcherzykowej oraz niedodmy;
- węzły chłonne – martwica ogniskowa, rozrost grudek chłonnych;
- nerki – przekrwienie, ogniskowe wylewy krwi; ogniskowe zapalenie kłębuszkowe rozplemowi, ogniskowa martwica komórek nabłonka kanalików nerkowych;
- graslica – przekrwienie;
- mięsień sercowy – przekrwienie i ogniskowe zwyrodnienie szkliste;
- mięśnie szkieletowe: zwyrodnienie szkliste;
- wątroba – zastój krwi, zwyrodnienie tłuszczowe drobnokropelkowe hepatocytów, ogniskowy zanik hepatocytów; skąpe nacieki komórkowe zapalne wokół triad wątrobowych;
- śledziona – zastój krwi, rozrost grudek chłonnych, ogniskowa martwica centrów rozrodczych grudek chłonnych;
- jelita – rozsiane nacieki komórkowe zapalne w błonie śluzowej.

Bezpośrednią przyczyną śmierci była niewydolność krążeniowo-oddechowa.

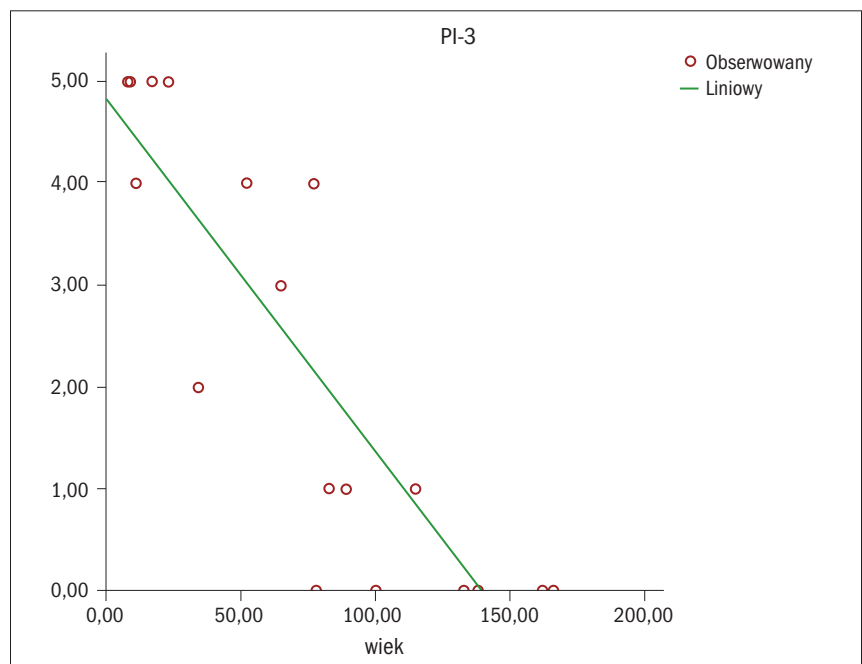
Z wycinków narządów wewnętrznych wyhodowano *Escherichia coli* szczep niehemolityczny i *Proteus* spp.

Omówienie

Enzootyczna bronchopneumonia jest chorobą występującą powszechnie u cieląt ras mlecznych. Nie istnieją jasne i jednoznaczne kryteria, które pozwalałyby znać zwierzę za wolne od tej choroby. W związku z tym współczynnik chorobowości stwierdzany w stadach waha się w zależności od przyjętych założeń (11). W badaniach przyjęto bardzo szeroką definicję EBC, uznając za zwierzę chore każdego osobnika, który wykazywał obecność przynajmniej jednego z klinicznych objawów ze strony układu oddechowego. Takie założenie bardzo zwiększa czułość diagnozy, ale jednocześnie powoduje znaczne obniżenie jej swoistości (12). Obliczony współczynnik chorobowości wyniósł 67% i chociaż był stosunkowo wysoki w porównaniu z danymi literaturowymi (11), może to być częściowo uzasadnione niską temperaturą i wysoką wilgotnością panującymi w pomieszczeniu (13). Zdecydowanie najczęściej obserwowanym objawem klinicznym był kaszel,



Ryc. 2. Zależność miana przeciwciał przeciwko syncytialnemu wirusowi układu oddechowego bydła (RSV) od wieku cieląt



Ryc. 3. Zależność miana przeciwciał przeciwko wirusowi parainfluenzy typu 3 (PI-3) od wieku cieląt

na drugim miejscu patologiczne zmiany oddechowe (świszczenia, trzeszczenia, rzęzenia, pluskania), a na trzecim wypływu z nozdrzy i duszność.

W celu podniesienia swoistości stawianej diagnozy można uznawać za chore jedynie cielęta, u których stwierdzono jednocześnie występowanie przynajmniej trzech objawów klinicznych spośród wymienionych: obecność spontanicznego kaszlu, wypływu z nozdrzy, duszności, patologicznych szmerów w tchawicy, oskrzelach i płucach, powiększenie węzłów chłonnych żuchwowych i przedłopatkowych. Takich cieląt w stadzie było 6, co dawałoby

współczynnik chorobowości równy 33%, bliższy doniesieniom literaturowym.

Typowa temperatura ciała cieląt w badanym stadzie oscylowała wokół przyjętej przez autorów wartości granicznej, ale ponieważ miała rozkład normalny można przyjąć, że jej podwyższenie było wynikiem stresu związanego z łapaniem i badaniem cieląt.

Podjęto również próbę diagnostyki serologicznej zakażeń wirusowych uznawanych powszechnie za pierwuszoplano-we w etiologii EBC (6). Szczególny nacisk położono na zakażenie BRSV, używając jednocześnie dwóch różnych testów

immunoenzymatycznych. Jeden z nich wykrywał wszystkie klasy przeciwciał, drugi natomiast jedynie przeciwciała klasy IgM. Ponieważ obecność przeciwciał klasy IgM świadczy o pierwotnej odpowiedzi immunologicznej (3), czyli niedawnym zakażeniu, wynik dodatni pozwala uznać BRSV za najbardziej prawdopodobną przyczynę choroby. Stwierdzenie przeciwciał bez określenia ich klasy świadczy jedynie o kontakcie z patogenem, natomiast nie informuje, kiedy ten kontakt nastąpił (3). W takim wypadku dla uznania danego patogenu za czynnik etiologiczny toczącej się choroby konieczne jest stwierdzenie bądź to serokonwersji, bądź czterokrotnego wzrostu miana przeciwciał po zbadaniu dwóch próbek surowicy pobranych w odstępie 2–4 tygodni. Przeprowadzone badania nie wykazały obecności przeciwciał klasy IgM skierowanych przeciwko BRSV, co wykluczyło ten patogen jako przyczynę choroby. Dodatkowo nie udało się wykryć żadnej statystycznie istotnej zależności pomiędzy obecnością przeciwciał a występowaniem objawów klinicznych. Dopiero analiza zależności pomiędzy mianami przeciwciał przeciwko BRSV i PI-3 a wiekiem cieląt ujawniła, że poziom przeciwciał bardzo wyraźnie zmniejsza się z wiekiem, co dowodzi, że wykryte przeciwciała pochodziły z siary. Tempo obniżania się ich poziomu było zgodne z danymi literaturowymi, według których przeciwciała przekazane przez matkę zanikają u cieląt pomiędzy 3. a 6. miesiącem życia (14, 15).

Cielę, które padło, wykazywało wszystkie kliniczne objawy zakażenia układu oddechowego, nie miało również przeciwciał siarowych ze względu na pobranie od matki siary złej jakości (dane z wywiadu). Badanie sekcyjne pozwoliło wykryć typowy dla EBC obraz histopatologiczny w postaci włóknikowego zapalenia płuc i opłucnej (1). Często spotykane jest również

zapalenie płuc o charakterze mieszanym, tzn. włóknikowo-ropnym (3). Zwraca się uwagę na istotną rolę bakterii, w tym mykoplazm, w etiologii tego typu zapalenia (7). W zmianach anatomopatologicznych płuc powodowanych przez *P. multocida* często spotyka się również rozedmę pęcherzykową (16, 17) i zrosty opłucnej (16), obecnie również u osobnika poddanego sekcji.

Należy zaznaczyć, że czynniki wirusowe i bakteryjne działają synergistycznie, powodując zapalenia płuc i oskrzeli. Jednak wirusy częściej są odpowiedzialne za ostry przebieg choroby (18). Wynik sekcji zwłok wykazał, że cielę chorowało przewlekłe, co sugerowałoby przewagę zakażenia bakteryjnego. Nie udało się niestety wyizolować żadnej z typowych dla EBC bakterii, przy czym ze względu na ograniczenia techniczne nie podjęto próby wykrycia mykoplazm. Wyizolowane bakterie są typowe dla pośmiertnego zanieczyszczenia zwłok na skutek utraty szczelności bariery jelitowej, szczególnie że cielę zostało poddane sekcji dopiero po dwóch dniach od padnięcia.

Wnioski

1. Dominującymi objawami klinicznymi EBC u cieląt jest wpływ z jamy nosowej o charakterze surowiczym lub śluzowym oraz suchy kaszel.
2. Przeciwciała przeciwko BRSV i PI-3 wykryte w surowicy cieląt były pochodzenia siarowego. Ich czas trwania w surowicy wynosił szacunkowo do 5 miesięcy.

Piśmiennictwo

1. Kahn C.M., Line S., Allen D.G., Anderson D.P., Jeffcott L.B., Quesenberry K.E., Radostits O.M., Reeves P.T., Wolf A.M.: *The Merck Veterinary Manual*. Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, New Jersey, USA 2005. 9th edition.
2. Bednarek D.: Etiopatogeneza syndromu oddechowego bydła (BRD, EBC) ze szczególnym uwzględnieniem roli

Mannheimia haemolytica A1. *Materiały XIII Kongresu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych „Od nauki do praktyki”* 18-20 września 2008.

3. Gliński Z., Kostro K.: *Choroby zakaźne zwierząt z zarysem epidemiologii weterynaryjnej i zoonoz*. PWRiL Warszawa 2003.
4. Dabo S.M., Taylor J.D., Confer A.W.: *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease. *Anim. Health Res. Rev.* 2007, **8**, 129-150.
5. Rice J.A., Carrasco-Medina L., Hodgins D.C., Shewen P.E.: *Mannheimia haemolytica* and bovine respiratory disease. *Anim. Health Res. Rev.* 2007, **8**, 117-128.
6. Uttenthal A., Jensen N.P., Blom J.Y.: Viral aetiology of enzootic pneumonia in Danish dairy herds: diagnostic tools and epidemiology. *Vet. Rec.* 1996, **139**, 114-117.
7. Confer A.W.: Update on bacterial pathogenesis in BRD. *Anim. Health Res. Rev.* 2009, **10**, 145-148.
8. Lago A., McQuirk S.M., Bennett T.B., Cook N.B., Nordlund K.V.: Calf respiratory disease and pen microenvironments in naturally ventilated calf barns in winter. *J. Dairy Sci.* 2006, **89**, 4014-4025.
9. Pithua P., Wells S.J., Godden S.M., Raizman E.A.: Clinical trial on type of calving pen and the risk of disease in Holstein calves during the first 90 d of life. *Prev. Vet. Med.* 2009, **89**, 8-15.
10. van der Fels-Klerx H.J., Horst H.S., Dijkhuizen A.A.: Risk factors for bovine respiratory disease in dairy young stock in The Netherlands: the perception of experts *Livestock Prod. Sci.* 2000, **66**, 35-46.
11. van Donkersgoed J., Ribble C.S., Boyer L.G., Townsend H.G.: Epidemiological study of enzootic pneumonia in dairy calves in Saskatchewan. *Can. J. Vet. Res.* 1993, **57**, 247-254.
12. Kita J., Kaba J., Frymus T., Krzyżańska K.: *Podstawy epidemiologii weterynaryjnej*. Wydawnictwo SGGW. Warszawa 2008.
13. Nonnecke B.J., Foote M.R., Miller B.L., Fowler M., Johnson T.E., Horst R.L.: Effects of chronic environmental cold on growth, health, and select metabolic and immunologic responses of prurimant calves. *J. Dairy Sci.* 2009, **92**: 6134-6143.
14. Żukowski K.: Znaczenie siary w odchowcie cieląt. *Wiad. Zootechn.* 2006, z. 1, 57-58.
15. Besser T.E., Gay C.C.: The importance of colostrum to the health of the neonatal calf. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 1994, **10**, 107-117.
16. Mathy N.L., Mathy J.P., Lee R.P., Walker J., Lofthouse S., Meeusen E.N.T.: Pathological and immunological changes after challenge infection with *Pasteurella multocida* in naïve and immunized calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2002, **85**, 179-188.
17. Dagleish M.P., Finlayson J., Bayne C., MacDonald S., Sales J., Hodgson J.C.: Characterization and time course of pulmonary lesions in calves after intratracheal infection with *Pasteurella multocida* A: 3. *J. Comp. Path.* 2010, **142**, 157-169.
18. Schäfer M., Paentzer S., Uhlhig A.: Clinical forms of enzootic pneumonia in calves and their effects on respiration. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 1992, **99**, 200-204.