

Problematika ozdravování chovů skotu od paratuberkulózy

Mgr. Iva Slaná, Ph.D.

Hustopeče 4.11.2016 Dny prvovýroby mléka



Paratuberkulóza

- Chronické onemocnění trávicího traktu (Johneho choroba)
- Rozvoj klinických příznaků - dlouho po nakažení
- Klinické příznaky: snížení doживosti, průjemy, úbytek na váze
- Nepravidelné vylučování původce
- Vylučování: v trusu, mléku, spermatu...



Klasické příznaky



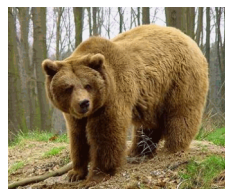
Vnímavá zvířata

- domácí a divocí přežvýkavci



Zvířata se zjištěným původcem PTB

- králíci, ptáci, medvěd, divoké prase, primáti...



Možnosti nákazy MAP

- Fekálně orální cesta
- Přenos MAP z krávy na tele přes kolostrum
- Umělá inseminace, sperma



Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* (MAP) – původce PTB

- Vysoká životaschopnost v prostředí (36 týdnů),
v hnoji (36 týdnů), v půdě (55 týdnů), v trusu (117 týdnů)
- Schopno přežívat proces pasterace
- Vylučování původce není stejně intenzivní; různé koncentrace
- Přenos *per os* – u mladých zvířat (několik týdnů po narození)
- Inkubační doba od 3 do 5 let (popsáno i 15 let)



Vzorky pro diagnostiku - konvenční

- Diagnostika
 - průkaz protilátek (sérum, mléko)
 - průkaz původce (trus, mléko, filtr)
 - potvrzení diagnózy post mortem (mikroskopické a kulturační vyšetření tenkého střeva a mizních uzlin)



Vzorky pro diagnostiku – méně časté



mléčné výrobky



mléčný filtr



maso a masné výrobky



stájové prostředí



bioplynové stanice

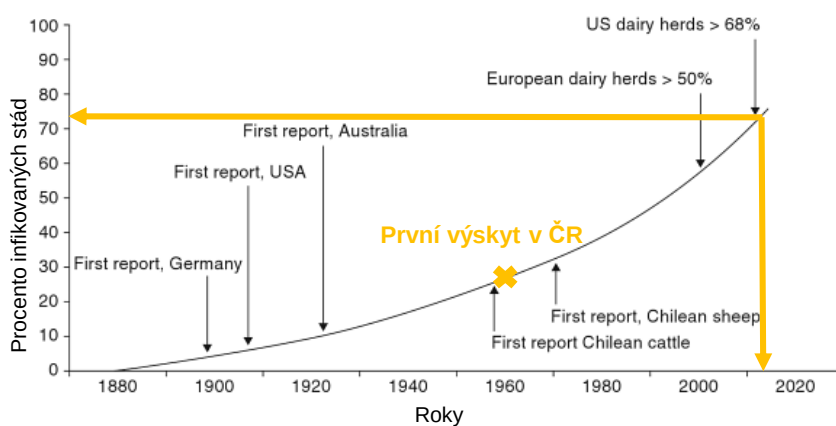


rostliny, půda



VUVeL

Teoretická křivka celosvětového výskytu paratuberkulózy (PTB)



M.A.Behr and D.M.Collins, Epidemiology of Paratuberculosis in Paratuberculosis - Organism, Disease, Control edited by E.J.B. Manning and M.T. Collins



VUVeL

Výskyt původce PTB v mléce

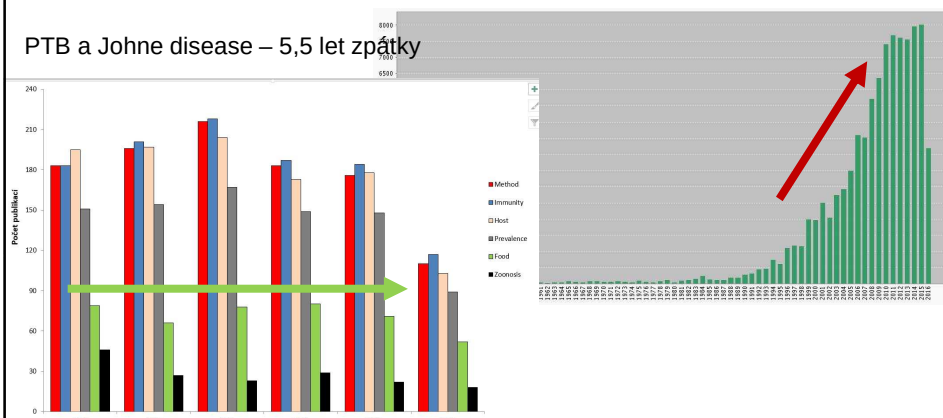
- Zoonotický potenciál (Crohnova choroba u lidí)
- Přežívání procesu pasterace
- Diagnostika v bazénových vzorcích mléka – ELISA či PCR
- Některé země EU přijaly programy, které mají snižovat/eliminovat výskyt *MAP* v mléce (mléčných výrobcích)
- Evropský trh pro tuzemské farmáře???



PTB výzkum - svět

PTB a Johne disease – všechny roky

PTB a Johne disease – 5,5 let zpátky



Paratuberkulóza - ekonomické ztráty

- Vysoké ekonomické ztráty v klinické i subklinické fázi
 - Přímé – pokles užitkovosti, vyšší náchylnost k chorobám, snížená schopnost zabřeznutí, ...
 - Nepřímé – likvidace uhynulých zvířat, snížená cena na jatkách, ...



Paratuberkulóza - ekonomické ztráty

- Chov mléčného skotu (385 zvířat) s vysokou prevalencí PTB; klinické případy, nesamostatné v produkci vlastních telat
- qPCR vyšetření trusu
- Rozdělení zvířat na MAP DNA pozitivní-negativní

Kategorie zvířat	Počet vyšetřených zvířat	Podíl MAP pozitivních zvířat		Podíl MAP negativních zvířat	
		n	%	n	%
Jalovice	121	71	58,7	50	41,3
Krávy na 1. laktaci	101	84	83,2	17	16,8
Krávy na 2. laktaci	86	75	87,2	11	12,8
Krávy na vyšší než 2. laktaci	77	61	79,2	16	20,8
Celkem	385	291	75,6	94	24,4

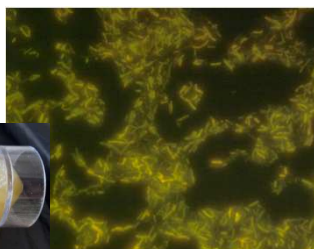
- Cena mléka 10 Kč/l = ztráta **178.936 Kč**

Slaná, I., Příbylová, R., Babák, V.: Odhad ztrát produkce mléka ve stádu skotu infikovaném paratuberkulózou. Veterinářství, 2013, 8, 598-602



Metody detekce *MAP*

- Nepřímý průkaz (protilátky)
 - ELISA – nevhodná pro zvířata mladší 18-ti měsíců
- Přímý průkaz původce
 - Mikroskopie
 - Kultivace (3 měsíce)
 - qPCR

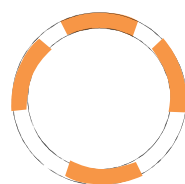


VUVeL

Nejčastější detekční cíle pro qPCR

➤ IS900

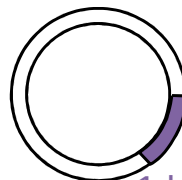
- Green et al., 1989
- 1451 bp
- Kvalitativní stanovení *MAP*



12 až 18 kopií

➤ F57

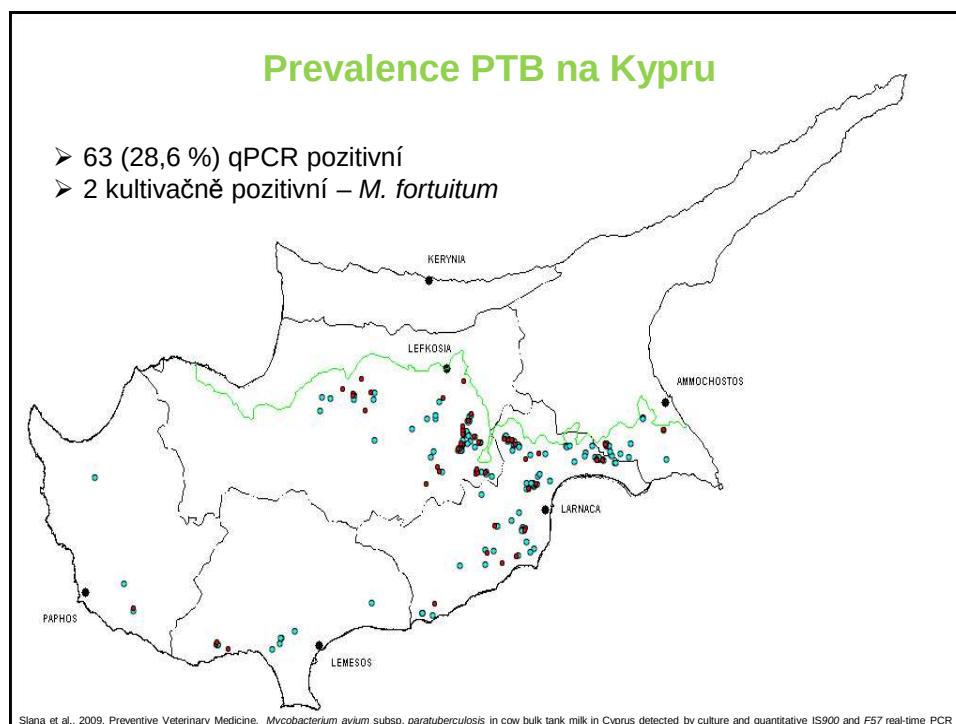
- Poupart et al., 1993
- ORF 620 bp
- Kvalitativní a kvantitativní stanovení *MAP*



1 kopie



VUVeL



Testování diagnostických metod

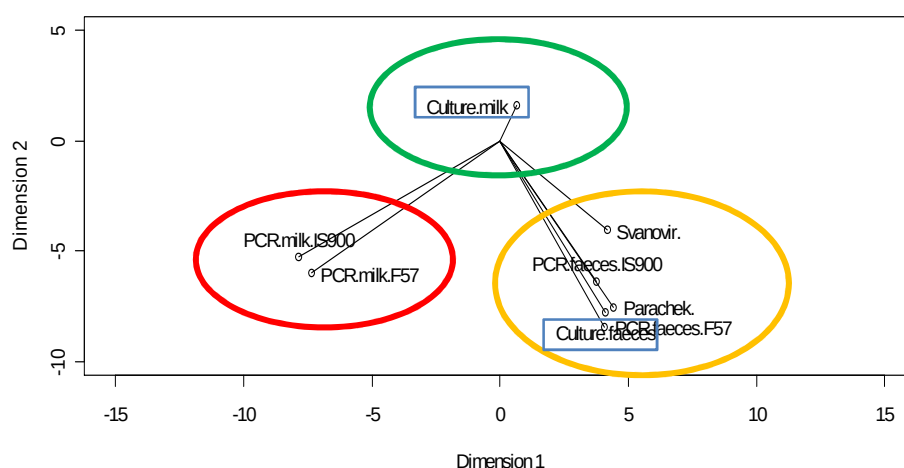
- Spolupráce s Rakouskem
- Vzorky mléka, trusu a krve
- Diagnostika pomocí kultivace, ELISA, qPCR

		Milk samples			Faecal samples			Milk		Blood
		qPCR		Cultivation	qPCR		Cultivation	ELISA		ELISA
Lac.	No.	IS900	F57		IS900	F57		S.	P.	
1	29	12 (41.4)	5 (17.2)	1 (3.4)	8 (27.6)	6 (20.7)	1 (3.4)	0	3 (10.3)	1 (3.4)
2	33	13 (39.4)	3 (9.1)	0	21 (63.6)	10 (30.3)	7 (21.2)	5 (15.2)	8 (24.2)	11 (33.3)
3	20	9 (45.0)	3 (15.0)	0	12 (60.0)	5 (25.0)	5 (25.0)	7 (35.0)	5 (25.0)	17 (85.0)
≥4	32	5 (15.6)	3 (9.4)	0	14 (43.8)	6 (18.8)	3 (9.4)	5 (15.6)	5 (15.6)	24 (75.0)
Total	114	39 (34.2)	14 (12.3)	1 (0.9)	55 (48.2)	27 (23.7)	16 (14.0)	17 (14.9)	21 (18.4)	53 (46.5)



Statistická analýza – vhodnost použití metod

Loadings plot



kultivace = diagnostický standard



Výběr vhodné diagnostické metody různých stádií PTB

Stupeň	Klinické příznaky	Vylučování	ELISA	PCR	Kultivace
1. Neinfikované	✗	✗	✗	✓	✗
2. Sub-klinické	✗	✓	✗	✓	✗
3. Klinické	✓	✓	✓	✓	✓
4. Rozvinutá	✓	✓	✓	✓	✓

- Individuální pro každý chov
- Záležitost financí, času



Farma „B“

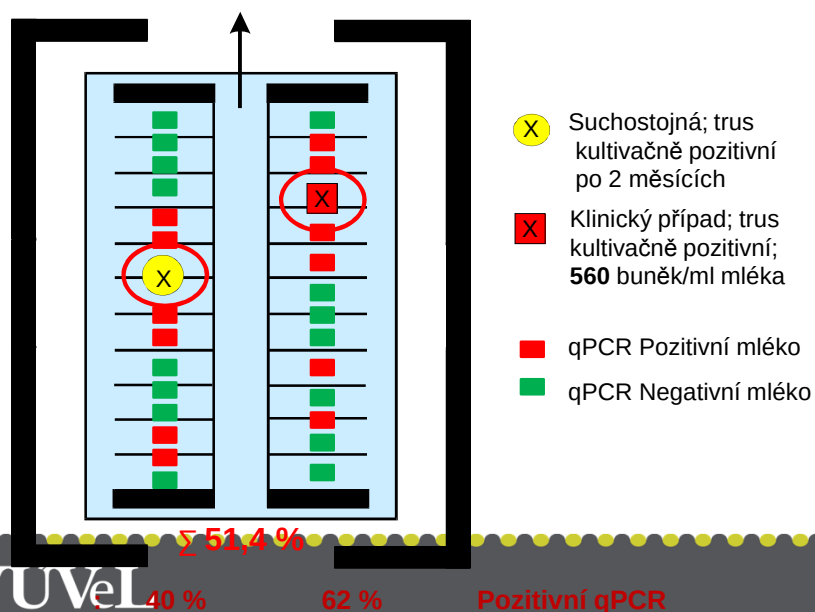
- Na začátku experimentu odběr trusu z rektu 73 zvířat
- Opakovaný odběr individuálních vzorků mléka v čase 1, 5, 6, 13, 82 dní (celkem 342 vz.)
- Současně i odběr bazénových vzorků mléka

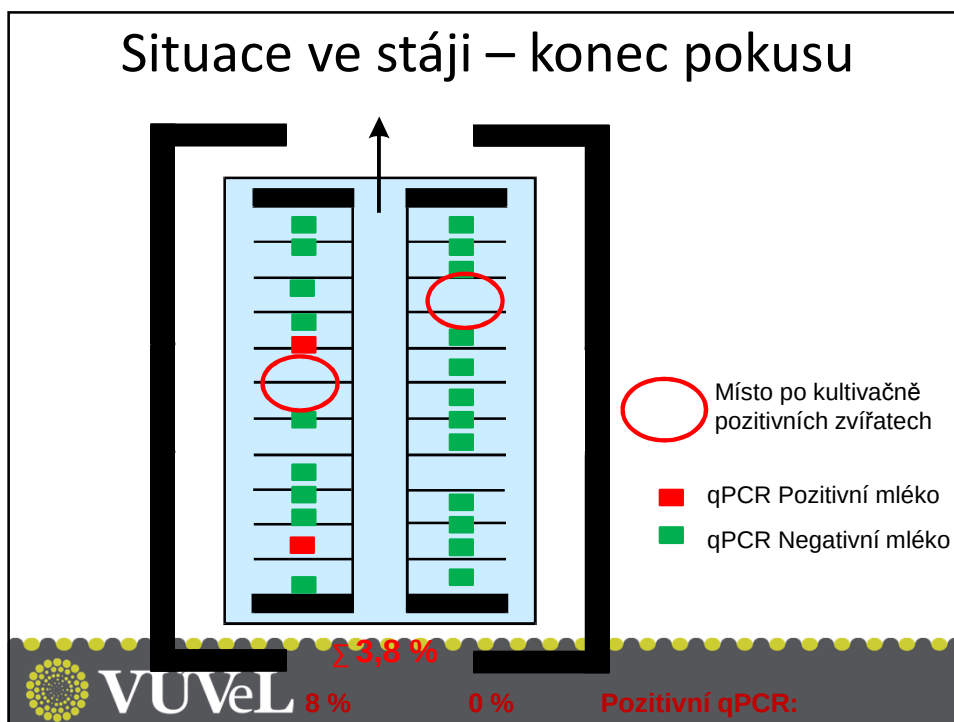


Farma „B“ - vazné ustájení krav



Situace ve stáji se 73 krávami



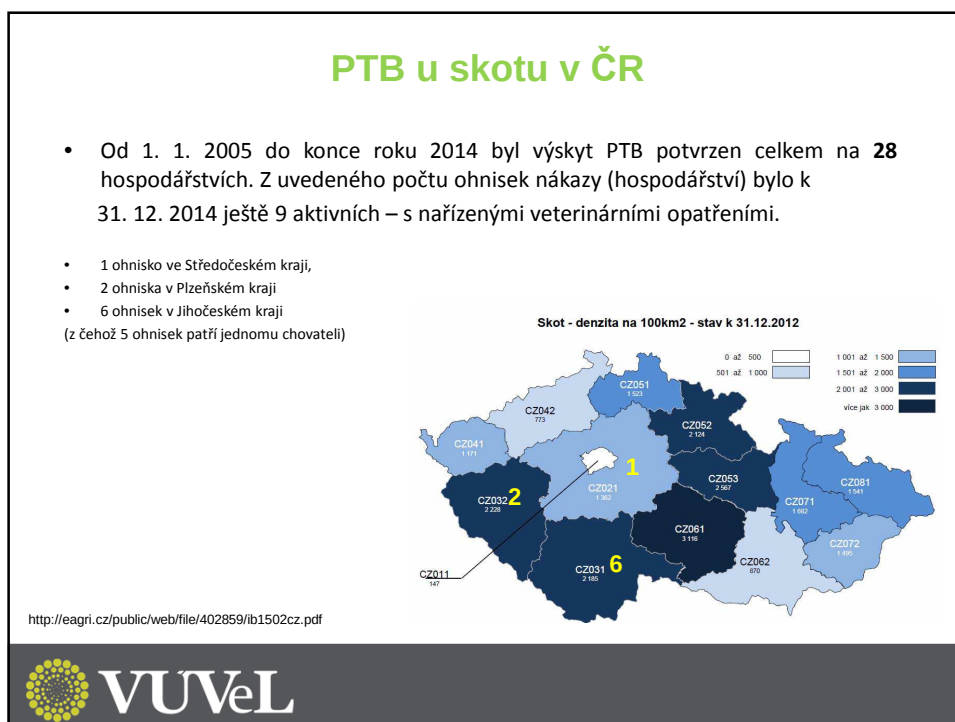
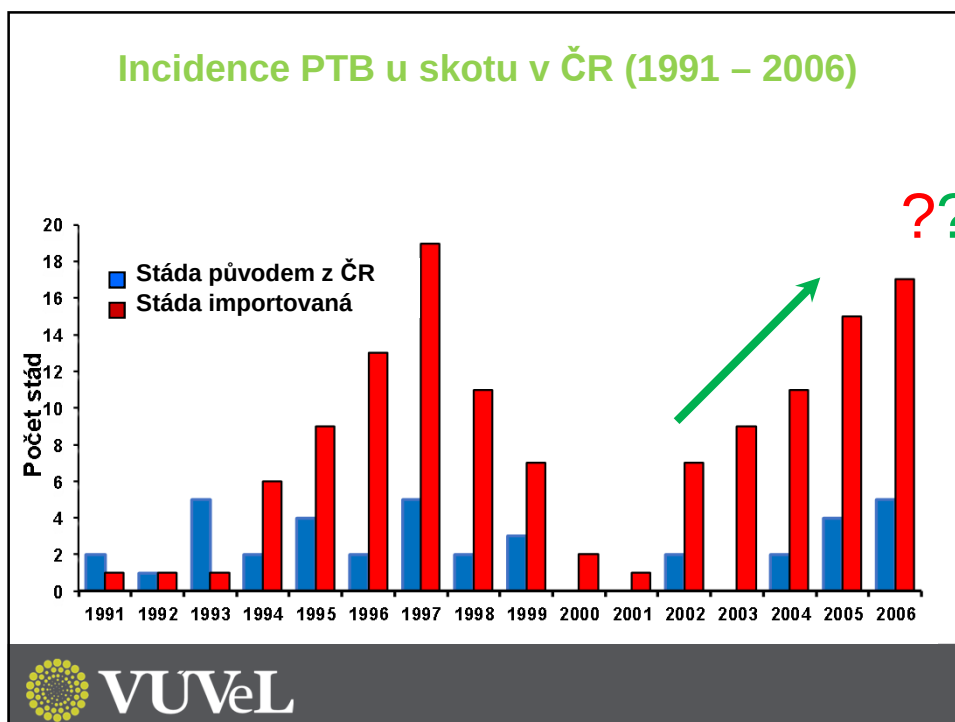


Odběry vzorků mléka v čase

Den odběru	Počet zvířat	PCR pozitivní (%)	BTM
1	72	37 (51,4)	+
Vyřazení masivní vylučovatelky			
5	72	24 (33,3)	+
6	72	25 (34,7)	+
13	73	23 (31,5)	+
Vyřazení suchostojné vylučovatelky			
82	53	2 (3,8)	-

Slana et al., 2008, International Journal of Food Microbiology, On-farm spread of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in raw milk studied by IS900 and F57 competitive real time quantitative PCR and culture examination

VUVeL



Děkuji za pozornost



Iva Slaná
slana@vri.cz
+420 777 786 711

