



VÚVeL Academy - od výzkumu k praxi v chovech
hospodářských zvířat, cyklus seminářů

**SBORNÍK ZE SEMINÁŘE
14. 05. 2024
(VÚVeL BRNO)**

**Kryptosporidióza a klostridiové infekce
- hrozby odchovu telat**

Seminář přináší výsledky související s řešením projektu NAZV QL24010350.



EVROPSKÁ UNIE



PRV 2014 – 2020 Prioritní oblast 2A Opatření MO1
Předávání znalostí a informační akce

Reg. číslo projektu
23/016/0121a/564/000060

POZVÁNKA



PRV 2014 – 2020 Prioritní oblast 2A Opatření MO1
Předávání znalostí a informační akce

Reg. číslo projektu
23/016/0121a/564/0000060



VÚVeL Academy - od výzkumu k praxi v chovech hospodářských zvířat,
cyklus seminářů

KRYPTOSPORIDIÓZA A KLOSTRIDIOVÉ INFEKCE - HROZBY ODCHOVU TELAT

PROGRAM

- **Plná imunitní výbava novorozených telat - klíčová role v odolnosti vůči infekci** - doc. MVDr. Soňa Šlosáková, Ph.D. (VÚVeL)
- **Kryptosporidióza – vážná hrozba pro novorozená telata** - prof. MVDr. Vlasta Svobodová, CSc. (VETUNI)
- **Klostridiové infekce skotu: stručný přehled etiologie, patogeneze a diagnostiky** - prof. MVDr. Alois Čížek, CSc. (VETUNI)
- **Klostridiové infekce: vyčkávat, nebo předcházet problému?** - MVDr. Libor Borkovec (VÚVeL)
- **Základní zootechnické kontrolní body při tlumení výskytu kryptosporidiózy a klostridiových infekcí u telat** - Ing. Stanislav Staněk, Ph.D. (MIKROP Čebín, a.s.)
- **Výskyt klostridií v objemných krmivech a jejich vliv na koncentraci ve výkalech dojnic** - MVDr. Hana Synková (NutriVet, s.r.o.)

Kdy:

úterý 14. 5. 2024
10:00 – 15:00 hod.

Kde:

VÚVeL,
Hudcová 296/70,
Brno 621 00

Kontakt:

Tel.: 773 756 631

Kontaktní osoba

doc. MVDr. Soňa Šlosáková, Ph.D. Seminář hrazen z PRV včetně občerstvení.
e-mail: sona.slosarkova@vri.cz Registrace do 10. 5. 2024.
Registrace www.vri.cz/prihaseni/

Seminář přináší výsledky související s řešením projektu NAZV QL24010350.



V průběhu semináře bude pořizována fotodokumentace akce, případně audiovizuální záznam výhradně za účelem medializace a propagace akce.

Osobní údaje budou v souladu s nařízením EP a Rady (EU) č. 679/2016 o ochraně fyzických osob v souvislosti se zpracováním osobních údajů a o volném pohybu těchto údajů a o zrušení směrnice 95/46/ES zpřístupněny také Státnímu zemědělskému intervenčnímu fondu a Ministerstvu zemědělství pro účely administrace, kontroly a evaluace Programu rozvoje venkova na období 2014-2020.



PLNÁ IMUNITNÍ VÝBAVA NOVOROZENÝCH TELAT – KLÍČOVÁ ROLE V ODOLNOSTI VŮČI INFEKCI

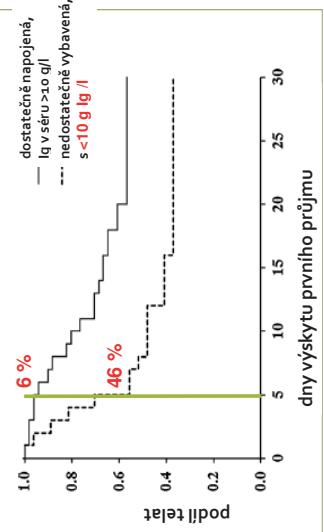


doc. MVDr. Soňa Šlosáriková, Ph.D.
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.
VÚVEL ACADEMY 14. 5. 2024

44

Imunitní výbava telat x průjmy a úhynty

Podíl telat ($n=76$) do výskytu prvního příjmu dle úrovně pasivní imunity



Lora et al., 2018, Prev. Vet. Medicine, 152, 12–15, doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.01.009

100

Imunitní výbava telat

Klínové nro

- zdraví a úhytny v prvních 30 dnech věku telete,
 - zdraví do odstavu telete,
 - příručky v období frostlinných výživových užitkovost v t. (2.) laktaci.
 - Imunitní výbava závisí na **příjmu a vstřebání**
 - ✓ protilátek (imunoglobulinů, dominantně IgG),
 - ✓ dalších biologicky aktivních látek a
 - ✓ imunitních buněk z mlezieva v trávicím traktu.
 - Tzv. **PŘENOS PASIVNÍ IMUNITY (PPI)**.

Pasivní imunita telat

Rozhoduje o ní:

- 1. imunologická kvalita mleziva (koncentrace Ig),
 - 2. objem přijatého mleziva,
 - 3. doba do podání první (a druhé) dávky mleziva
(sání od matky),
 - 4. bakteriální kontaminace mleziva

Úspěšný přenos pasivní imunita = dosažení minimální koncentrace Ig v séru.
Historicky (od 70 let 20. století) - minimum = **10 g Ig / krevního séra**. Měřeno u 1 – 7denních telat.



VU
Vel

Pasivní imunita telat

1

A black and white cow stands in a stall, looking towards the camera. The stall has a metal frame and a wooden floor. There is some straw on the floor.

11

Zdrojové texty

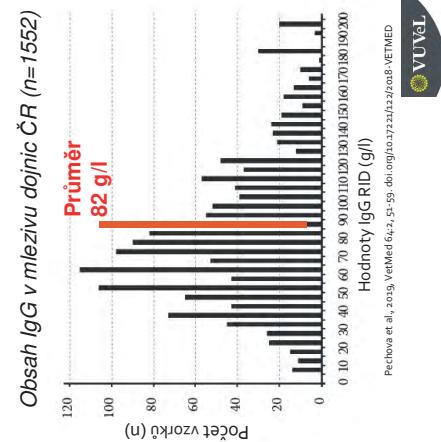
Tzv. PŘENOS PASIVNÍ IMUNITY (PPI).



VUVel

1. Immunologická kvalita mleziva

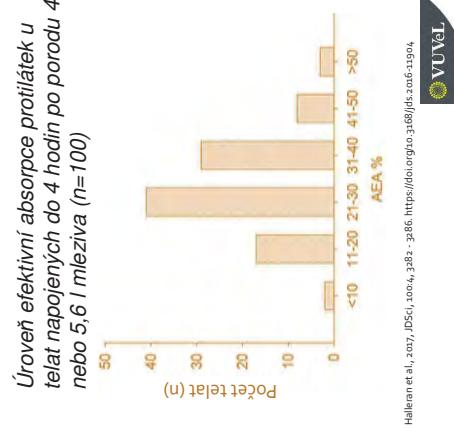
- Posuzuje se podle koncentrace IgG.
- Obsah IgG je velmi variabilní (10 - 200 g/l), vlivy:
 - přední laktace,
 - doba od porodu k podojení,
 - sezóna,
 - plémno,
 - stání na sucho kratší než 21 dní
 - vakcínace krav – specifické protitělký



Pro první napojení použitelné mleziivo
 $= \geq 50 \text{ g Ig/l}$.

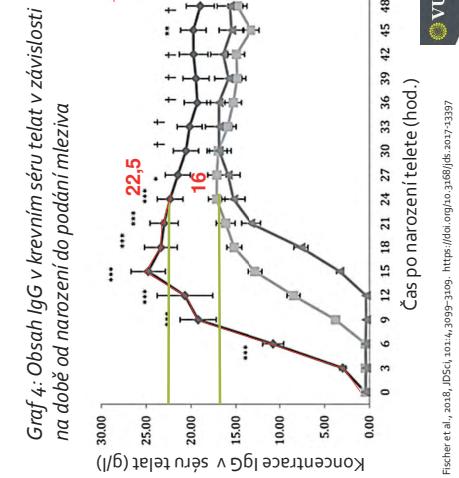
2. Objem mleziva

- K zajištění základní pasivní imunity ($\geq 10 \text{ g Ig/l séru}$) je požádává, aby teče přijalo minimálně 150 – 200 g IgG.
- Při 1. napojení by mělo **přijmutout 2,8 – 3,8 l**
mleziva = 7 – 9 % své živé hmotnosti.
- Efektivní absorpcie protitělek – **EAP** (*apparent efficiency of absorption*).
- EAP kolísá 8 – 60 %, průměr 28,1 -33 %
- $$\text{EAP} = \frac{\text{IgG v séru (g/l)} \times \text{živá hmotnost (kg)}}{\text{obsah IgG v mleziu (g/l) \times objem podávaného mleziva (l)}} \times 100$$



3. Čas do podání mleziva

- Po narození je střevní sliznice prostupná pro makromolekuly i buňky.
- Prostupnost klesá s časem od porodu. Zánět enterocytů, kolonizace střeva bakteriemi, produkce trávicích enzymů – znesnadňují vstřebávání IgG.
- Uzavírání střevní sliznice je akcelerováno přijetím i malého množství mleziva.
- Za 6 hodin po porodě je vstřebatelnost Ig jen cca 50 %!



4. Bakteriální kontaminace mleziva

- Mleziivo v mléčné žláze je bez obsahu mikroorganismů.
- Kontaminace v průběhu získávání, skladování a krmení telet.
- Bakterie se v nezabezpečeném mleziivu rychle množí – následky:
 - a) přímo - **vazba patogenů na Ig**,
 - b) nepřímo - **vazba patogenů na receptor y enterocytů**
 $=$ **oboji omezuje vstřebávání Ig**.
- Hodnocení kontaminace:
 - celkový počet mikroorganismů (CPM)** – ukazatel úrovni celkové zoohygieny v chovu, limit **100 000 KJ/ml**.
 - počet koliformních mikroorganismů (CPCM)** – indikátor fiktívni kontaminace mleziiva, vč. hygiény dojení, historicky limit 10 000 KJ/ml, cíl – **co nejméně**
- Kontrola na místě (při národi, po ohřevu a před zkrměním telet = hodnocení kontaminačních cest).



Šlosáková et al., 2017. Certifikovaná metoda 90/2017/37 str.

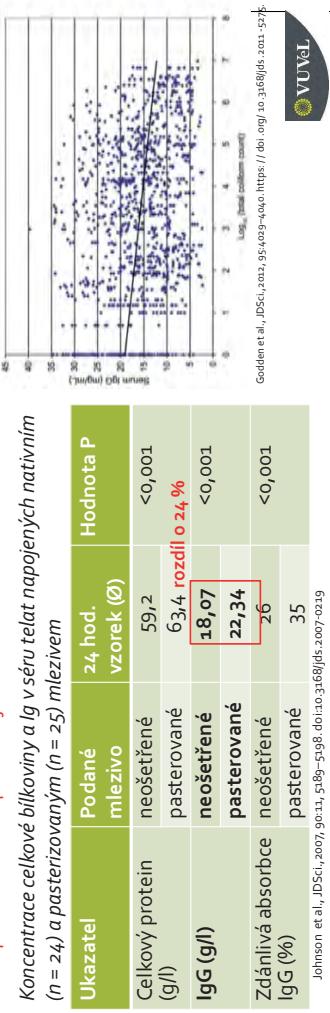
VUVeL

Vliv bakteriální kontaminace na pasivní imunitu

- Vyšší hodnoty sérových Ig u nalézány u telat napájených pasteurizovaným versus nativním mlezem.
- Vstřebávání Ig G souviselo s počtem koliformních bakterií (Godden et al., 2012).
- Jde o potenciální zdroj patogenních mikroorganismů (*E. coli*, salmonely, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Mycobacterium avium* spp., *paratuberculosis*).

• Lépe než složitě napravovat je **nekontaminovat!**

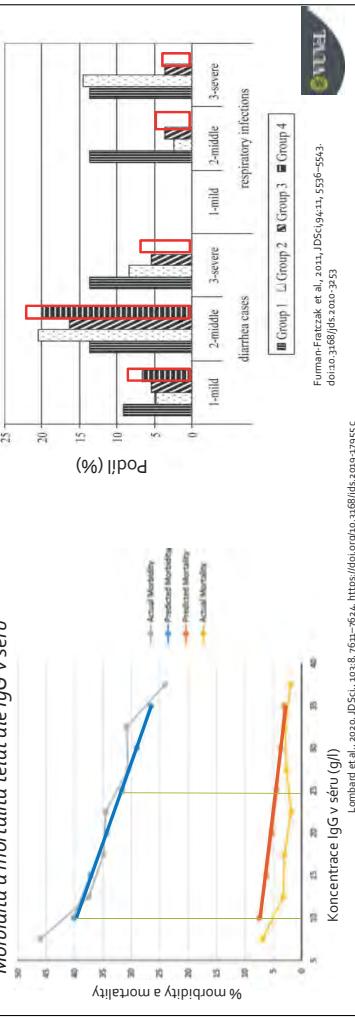
Koncentrace celkové bílkoviny a lg v séru telat napojených nativním (n = 24) a pasteurizovaným (n = 25) mlezem



Akceptovatelná versus Cílová pasivní imunita telat

- Historicky akceptovatelná = minimální úroveň pasivní imunity je **≥10 g IgG/kve**
- ALE 1. NEMOCNOST

Morbidity a mortalita telat dle IgG v séru



Historicky akceptovatelná = minimální úroveň pasivní imunity je **≥10 g IgG/kve**

2. ZÁVĚR

Podíl a intenzita onemocnění u telat ve skupinách 1, 2, 3, 4 dle koncentrace Ig v séru 5, 5–10, 10–15, >15 g/l.

Aktuální cíl úrovně pasivní imunity telat

- Usilovat o co nejlepší výsledky (**≥ 18 g IgG, 25 g IgG**)
- pozitivní stimulaci a opakovanou edukací pracovníků.

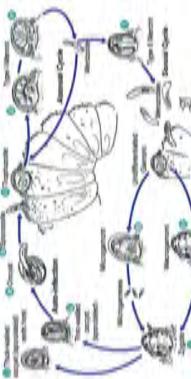
Konsensus hraničních hodnot Ig, CB a % Brix pro hodnocení pasivní imunity telat

Parametr	Selhání přenosu pasivní imunity	Vyhovující výbava protilitikami	Dobrá výbava protilitikami	Excelentní výbava protilitikami
Ig (RID) (g/l)	<10	10-18	18-25	≥25
CB-refraktometr (g/l)	<50	50-58	58-62	≥62
% Brix- refraktometr	<8,1	8,1-8,9	8,9-9,3	≥9,4
Požadované zastoupení telat v kategorii (%)	<10	~20	~30	>40

Lembard et al., 2020, JDS, 103:8, 7611-7624. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-22955c>

Kryptosporidioza a klostridiové infekce telat – podobné rysy

- postihují telata nejmladších věkových kategorií
- rychlý nástup klinického onemocnění
- významné narušení zdravotního stavu/úhyby
- problematická /neexistující etiolog. léčba
- **prevence rozvoje onemocnění**



https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5e/Clostridium_perfringens.jpg

Kryptosporidióza a klostridiové infekce telat

Prevence

- přiměřená kvalitní výživa

- **eliminace stresů**

- **zoohygiena** (omezení kontaminace prostředí patogeny, tj. snížení infekčního tlaku)

- **odolnost zvířete** – navození specifické imunity

vakcína březích krav - kolostrální a laktogenní imunita (specifické protitáky)

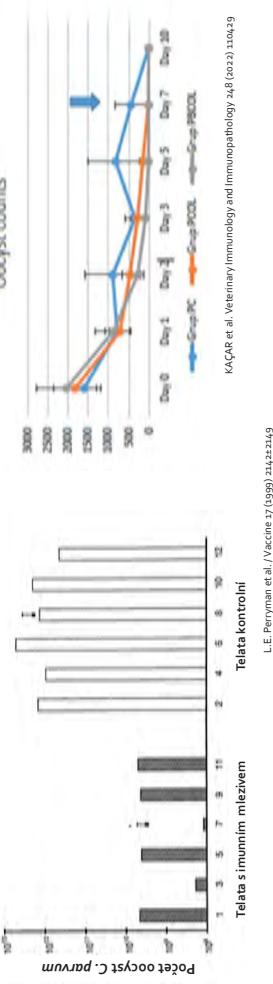


Kryptosporidióza

Specifické protilátky proti *C. parvum* v mlezu snižují významně infekčnost *C. parvum*.

Mlezo je užíváno k metafylaxi i léčbě kryptosporidiózy u lidí i zvířat.

Využívání oocyst *C. parvum* u telat napojených mlezem s obsahem spec. protitáku a u telat kontrolních tlaků



Využívání oocyst *C. parvum* u telat léčených paramomycinem, paramomycinem a mlezivem, a NaHCO₃

Oocyst counts

Day 0

Day 1

Day 2

Day 3

Day 4

Day 5

Day 6

Day 7

Day 8

Day 9

Day 10

Day 11

Day 12

Day 13

Day 14

Day 15

Day 16

Day 17

Day 18

Day 19

Day 20

Day 21

Day 22

Day 23

Day 24

Day 25

Day 26

Day 27

Day 28

Day 29

Day 30

Day 31

Day 32

Day 33

Day 34

Day 35

Day 36

Day 37

Day 38

Day 39

Day 40

Day 41

Day 42

Day 43

Day 44

Day 45

Day 46

Day 47

Day 48

Day 49

Day 50

Day 51

Day 52

Day 53

Day 54

Day 55

Day 56

Day 57

Day 58

Day 59

Day 60

Day 61

Day 62

Day 63

Day 64

Day 65

Day 66

Day 67

Day 68

Day 69

Day 70

Day 71

Day 72

Day 73

Day 74

Day 75

Day 76

Day 77

Day 78

Day 79

Day 80

Day 81

Day 82

Day 83

Day 84

Day 85

Day 86

Day 87

Day 88

Day 89

Day 90

Day 91

Day 92

Day 93

Day 94

Day 95

Day 96

Day 97

Day 98

Day 99

Day 100

Day 101

Day 102

Day 103

Day 104

Day 105

Day 106

Day 107

Day 108

Day 109

Day 110

Day 111

Day 112

Day 113

Day 114

Day 115

Day 116

Day 117

Day 118

Day 119

Day 120

Day 121

Day 122

Day 123

Day 124

Day 125

Day 126

Day 127

Day 128

Day 129

Day 130

Day 131

Day 132

Day 133

Day 134

Day 135

Day 136

Day 137

Day 138

Day 139

Day 140

Day 141

Day 142

Day 143

Day 144

Day 145

Day 146

Day 147

Day 148

Day 149

Day 150

Day 151

Day 152

Day 153

Day 154

Day 155

Day 156

Day 157

Day 158

Day 159

Day 160

Day 161

Day 162

Day 163

Day 164

Day 165

Day 166

Day 167

Day 168

Day 169

Day 170

Day 171

Day 172

Day 173

Day 174

Day 175

Day 176

Day 177

Day 178

Day 179

Day 180

Day 181

Day 182

Day 183

Day 184

Day 185

Day 186

Day 187

Day 188

Day 189

Day 190

Day 191

Day 192

Day 193

Day 194

Day 195

Day 196

Day 197

Day 198

Day 199

Day 200

Day 201

Day 202

Day 203

Day 204

Day 205

Day 206

Day 207

Day 208

Day 209

Day 210

Day 211

Day 212

Day 213

Day 214

Day 215

Day 216

Day 217

Day 218

Day 219

Day 220

Day 221

Day 222

Day 223

Day 224

Day 225

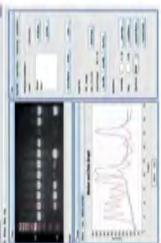
Day 226

Kontrola přenosu pasivní imunity - přímá

Jak lze pasivní imunitu kontrolovat?

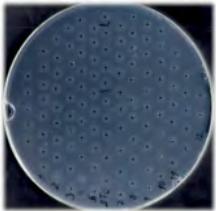
- Přímo nebo nepřímo.

Elektroforéza



Zdroj:https://cyber.felk.cvut.cz/theSESy/papers/75.pdf

Radiální imunodifuze



Šlošáková et al. 2017 Certifikovaná metodika 90/2017- 37 str.

• Přímá kontrola: vyšetření koncentrace IgG v krevním séru telete 1-7 dní věku.

• Metody: Elektroforéza, Radiální imunodifuze, kapilární elektroforéza, ELISA, MALDI-TOF.

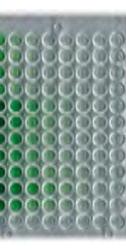
• Výžadují laboratorní zázemí, přístrojově, časově, finančně náročné.

• Nelze je tedy provádět přímo na farmě.

• Sřážecí metody (síran zinečnatý, glutaraldehyd).

Zdroj:muni.cz/ejmed/jaro2018BLIMo4_11c/munanalysa_ELISA.pdf

Elisa



Šlošáková et al. 2017 Certifikovaná metodika 90/2017- 37 str.

Kontrola přenosu pasivní imunity - nepřímá

- Vyšetření analytů korelujících s obsahem Ig v krvi.

Celková bílkovina (CB), globuliny, aktivita GGT.

Nejběžnější vyšetření CB.

- Metody: 1. fotometricky (laboratorní),

2. refraktometricky

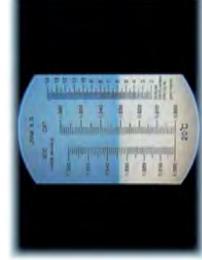
- a) odhad CB (g/l),

- b) odhad obsahu celkové sušiny (% Brix).

Hraníční hodnota (cut point) historicky pro akceptovatelnou výbavu = **≥50 (52, 55) g CB/l** séra. (ve věku 1 – 7 dní).
8,2 (8,3) % Brix.

- Absolutní hodnota není jednotná (různé metody, přístroje, různé designy sledování).

Šlošáková et al. 2017 Certifikovaná metodika 90/2017- 37 str.



Stav pasivní imunity telat v ČR

- Výzkum v letech 2015 – 2017,
- analýza 691 vzorků sér, 38 stád hořšítnského a českého strakatého skotu,
- průměrná hodnota **IgG 14 g/l**.

SPPI (Ig<10 g/l) 32 % vzorků!!, CB (<52 g/l) 37 % vzorků!!

Tabulka 5: Koncentrace IgG, celkové bílkoviny a% Brix v krevních sérech telat (n=691), podél vzorků se SPPI.

Parametr	Průměr	SD	1. quartil (25 %)	2. quartil (50 %)	3. quartil (75 %)	Hraníční hodnota	SPPI (%)
IgG stanovené	14,0	7,0	8,8	13,0	18,1	10	32
RID (g/l)							
CB - refraktometr (g/l)	54,7	7,8	49,0	54,0	60,0	52,0	37
Brix (%)	8,6	0,9	7,9	8,5	9,2	8,3	37

Šlošáková et al. 2017 Certifikovaná metodika 90/2017- 37 str.



Souhrnné doporučení k řízení pasivní imunity telat

1(2), 3(4), 5(0) + K+R

- do 1-2 hodin získat mlezoivo a napojit,

litry mlezoiva,

s kvalitou $\geq 50 \text{ g/l}$ a 0 kontaminací koliformními bakteriemi, pravidelně provádět kontrolu pasivní imunity, refraktometrem.



Hezký den

doc. MVDr. Soňa Šlosářková, Ph.D.
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
sona.slosarkova@vri.cz
602 230 321

Financováno projektem NAZV QL 24010350.



Kryptosporidióza

- *Cryptosporidium parvum*
- *Cryptosporidium bovis*, C. spp.

nitrobuněční parazitě tenkého střeva, oocysty 0, 005-0, 007 mm

Vývojový cyklus – opakování množení ve střevních buňkách → závisí na imunitě

↓ nízká imunita → autoinfekce → opakování vývojového cyklu

Kompetentní imunita → ukončení vývoje kryptosporidií

FVL, VETUNI



Kryptosporidióza telat

Prof. MVDr. Vlasta Svobodová, CSc., DipEVPC

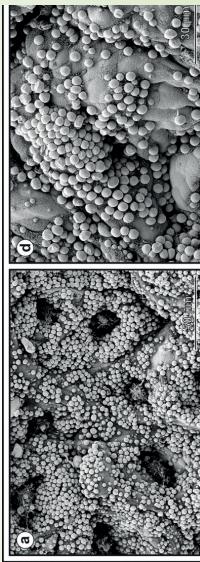
Ústav patologické anatomie a parazitologie

FVL, VETUNI

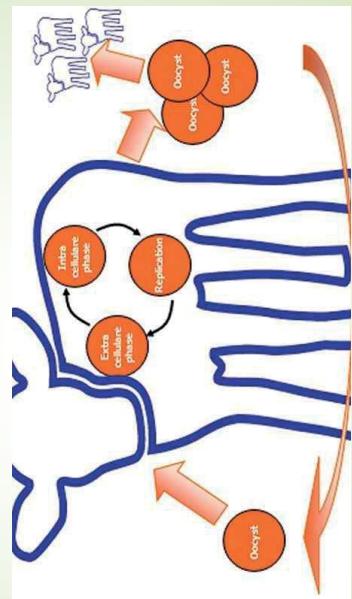
Kryptosporidióza

Infekce z vody, potravy, vzduchu
↑ rozvoj podmíněn patogenních infekcí - virových (rotaviry, coronaviry), bakteriálních (*Escherichia coli*)

Kryptosporidióza = multifaktoriální infekce



Vývoj rodu *Cryptosporidium*



Kryptosporidióza telat

Tenké střevo

- *Cryptosporidium parvum* – telata do 3 týdnů věku, nejrozšířenější druh s nízkou hostitelskou specifitou – riziko zoonotického přenosu
- *Cryptosporidium bovis*, *Cryptosporidium ryanae* – výskyt u telat starších než 1 měsíc, specifické druhy skotu
- Slez
- *Cryptosporidium andersoni* – dospělí jedinci

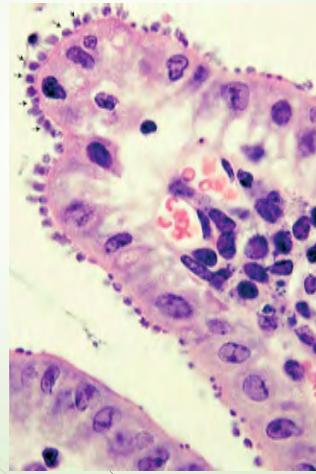
Mezidruhové šíření kryptosporidiózy



Kryptosporidióza telat do 3 týdnů věku

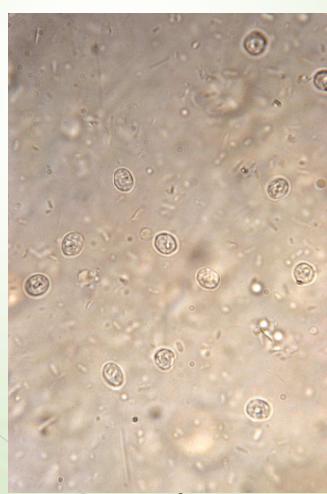
Cryptosporidium parvum
telata – infekce už v několika dnech (2 - 3 dny)
čím mladší tele, tím rychlejší vývoj kryptosporidií
Klinické příznaky – zvýšené slinění, třes a nástup žlutozelených
hlenovitých průjmu → rychlá ztráta kondice během 2 až 5 dní
Telata jsou apatická, neochotná vstávat a sáť
Infekce se rychle šíří
Vliv na průběh infekce – imunita, výživa, další patogeny – stres,

Kryptosporidióza



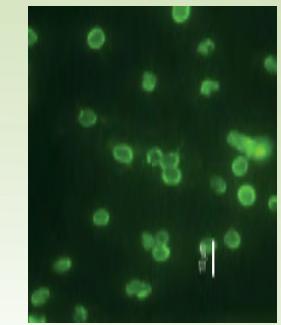
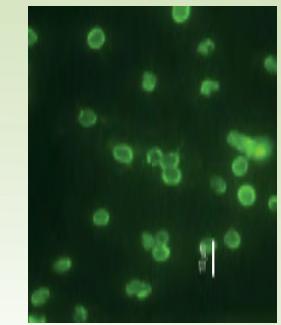
Kryptosporidióza

Diagnostika



Kryptosporidióza

Diagnostika



Kryptosporidióza

Terapie

Přípravek proti nitrobuněčným stádům kryptosporidií není využitý

- **Prevence - Inleziivo** včas a v odpovidajícím množství obsahuje protilátky proti kryptosporidióze, krávy prodělávají infekci latentě opakováně → protilátky v mlézivu prostup protišték do krve → **pasivní imunita telat** protilátky likvidují uvolněná stádia kryptosporidií před vniknutím do buněk → **lokální imunita**

Kryptosporidióza

Prevence

vakcína Bovilis Cryptum injekční emulze pro skot inj. vakcína pro jalovice a krávy ve 3. trimestru březosti
⇒ hyperimmunní kolostrum ⇒ pasivní imunita telat – ochrana do 2 týdnů věku

- **Napití 3 l mlezeva do 6 hodin po narození, 5 dnů přechodové mléko**

Kryptosporidióza

Prevence

Likvidace mimobuněčných stádii uvolňujících se z buněk během množení

- Přípravky na bázi halofuginonu (Halocur, Cryisel, Halagon aj.) nebo paromomycinu (Gabbrovet, Parofor aj.), perorálně aplikace 24 až 48 hodin po narození a dále dle doporučení aplikace pro **zmírnění průjmu** zahájení do 24 hodin po nástupu průjmu, Kontraindikace – nepodávat nalačno, při dělitravajícím průjmu, oslabeným jedincům

Kryptosporidióza

Prevence

Dostatečné napití mleživa po narození – věas a v dostatečném množství – **pasivní imunita**

- V ohrožených chovech opakování aplikace 0,5 l až 1 l mleživa v mléčném nápoji do věku 14 dní – **lokální imunita**
- Přípravky na bázi halofuginonu nebo paromomycinu aplikovat všem dalším novorozeným telatiům do vymízení rizika kryptosporidiózy v zařízení

Kryptosporidióza

Prevence

Pravidelné podestýlání čistou slámou v dostatečném množství

- Dodržování věkových skupin telat
- Karanténa 1 týden po uzdravení – ještě jsou vylučovány oocysty
- Při krmení a nutné manipulaci s telaty postupovat od zdravých telat k nemocným

Kryptosporidióza

Prevence

Prevence – zoohygienická opatření

- Pravidelná mechanická očista odchovny telat a prostředí.

Dezinfekce – po mechanické očistě

- Pamí čištění, horká voda 60 – 70 °C za 5 minut, 75 °C za 1 minutu
- Neopredisan 135-1
- 2,4 % roztok – po 2 hodinách

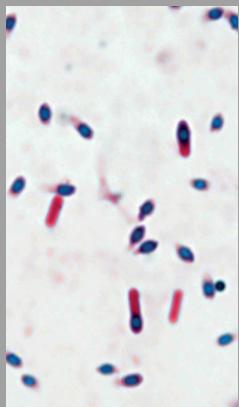
Kryptosporidíza slezu

Cryptosporidium andersoni - slez

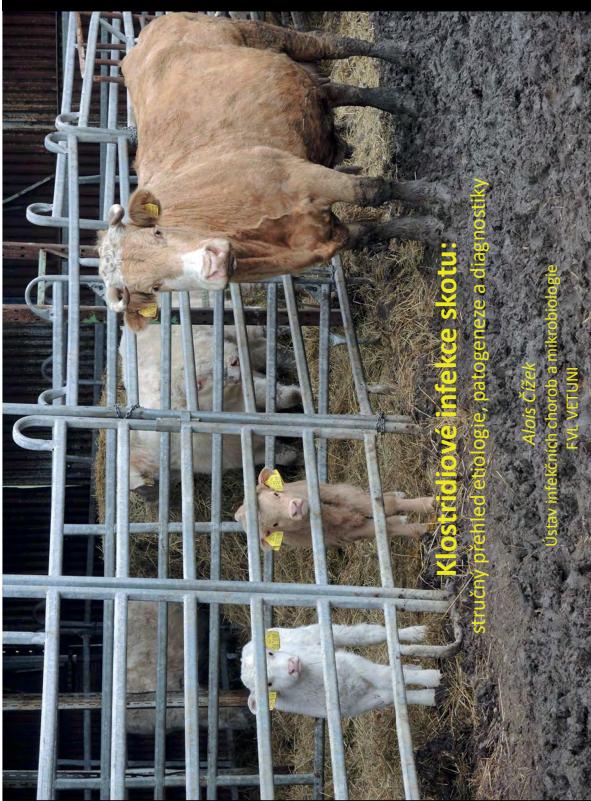
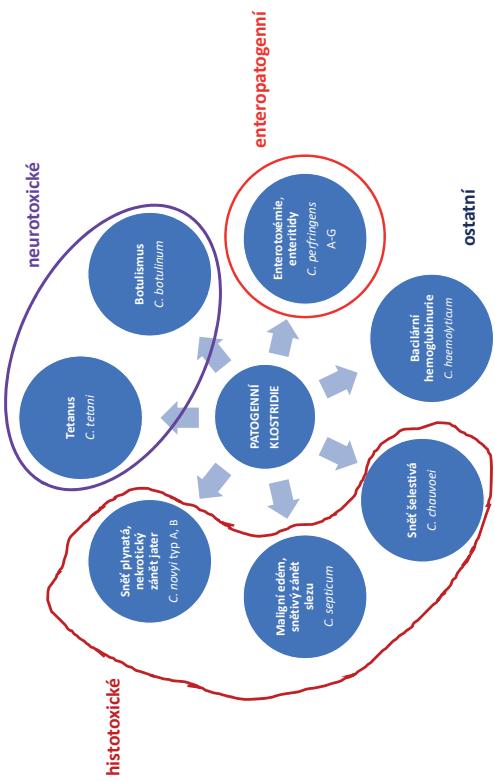
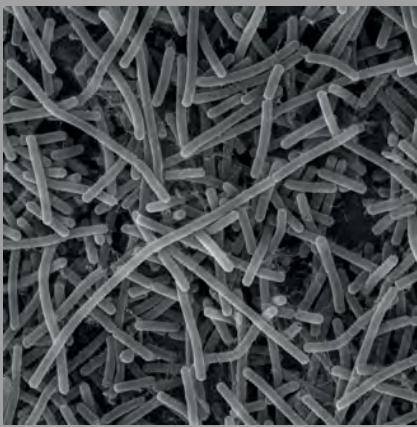
- Mladí jedinci ve věku 1 – 2 roky
- Infekce je obvykle bez příznaků
- Zřídka hubnutí
- Potenciální riziko přenosu na člověka - vzácně

Děkuji za pozornost





Klostridie



Klostridiové infekce skotu:

strukčný přehled etiologie, patogeneze a diagnostiky

Alois Čížek
Ústav mikrobiologie a mikrobiologie
FVL VETUJI

Rod *Clostridium*

- cca 180 validně popsaných druhů z nich <20 patogenních pro lidi a zvířata

- patogenita klostridií je dáná produkcí toxinů a enzymů

- aktivita toxinů umožňuje jejich základní rozdělení

Klostridiové infekce

Klostridiové infekce významné pro skot a malé přežvýkavce

Skupina	Druh původce	Onemocnění
Neurotoxické klostridie	<i>C. tetani</i> <i>C. botulinum</i>	Tetanus Botulismus
Histotoxické klostridie	<i>C. septicum</i> <i>C. chauvoei</i> <i>C. novyi</i> <i>Paeniclostridium (C.) sordellii</i> <i>C. perfringens</i> <i>C. haemolyticum</i>	Gangrény, snětí nebo infekce různých tkání (svály, fascie, podkoží, játra, sliznice slezu, ledviny, apod.)
Enterotoxické a enterotoxemické klostridie	<i>Paeniclostridium (C.) sordellii</i> <i>C. perfringens</i> <i>C. septicum</i> <i>Clostridioides difficile</i>	Enteritidy a enterotoxemie

- botulismus (*C. botulinum*) a tetanus (*C. tetani*)

- sněť šelestivá (*C. chauvoei*)

- maligní edém (*C. septicum*, případně *C. novyi*, *C. sordellii* i *C. perfringens*)

- **hemoragické enteritidy, abomasitidy a enterotoxemie**

❖ *C. perfringens*, *C. septicum*, *C. sordellii*, *C. difficile*



Botulismus (*C. botulinum* typ A-G, *C. butyricum*, *C. baratti*, *C. argentinense*)

Botulismus u hýbůk plemene Charolais krmencích pšeničným zdrojem kontaminovaným *Clostridium botulinum* typu C



Průkaz botulotoxinu biologicky může

I. Mereghetti et al. / Acta Veterinaria Veterinaria Report of a Botulism Outbreak in Beef Cattle Due to the Contamination of Wheat by a Roasting Cat Carcass. From the Suspcion to the Management of the Outbreak. Animals, 2019;9(12):1025.

Journal of Vet. Sci., 2011, 14(3), 347–348. © Cambridge University Press 2011
A large outbreak of bovine botulism possibly linked to a massive contamination of grass silage by type D/C *Clostridium botulinum* spores on a farm with dairy and poultry operations



Typy C, D, E (sacharolytické)



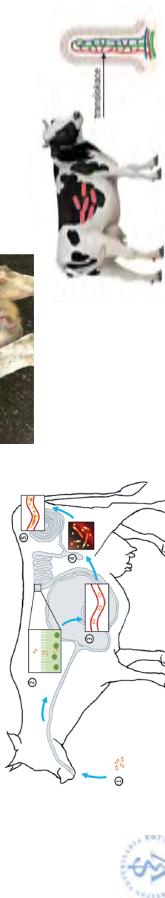
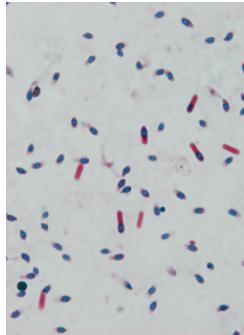
Tetanus

- u skotu je relativně vzácný



Malignní edém, snět šelestivá

C. septicum, *C. chauvoei*, *C. novyi*, *Paenibacillus sordellii*, *C. perfringens* typ A



Clostridium septicum



Clostridium perfringens



Clostridium perfringens

- je anaerobní grampozitativní sporující bakterie, která je komenzálem gastrointestinálního traktu lidí i zvířat a je také přítomná v půdě a odpadních vodách
- C. perfringens* má schopnost produkovat četné extracelulární toxiny a enzymy, z nichž nejvíce toxicický je toxin alfa
- kmeny *C. perfringens* jsou nově klasifikovány do sedmi toxinotypů (A-G) na základě přítomnosti genů pro toxiny alfa, beta, iota a epsilon, enterotoxin a nekrotoxin
- mimo jiné se izolují z případů **enterotoxémie** a z případů **hemoragicko-nekrotických enteritid** telat, ale také ze střeva zdravého skotu a jiných teplokrevných zvířat a také z prostředí



Typy *Clostridium perfringens*:

toxiny a jejich účinek, geny a jejich lokalizace

Toxin	Typ <i>C. perfringens</i>						Gen	Lokalizace genu	Účinek toxinu
	A	B	C	D	E	F			
alfa	+	+	+	+	+	+	+ <i>plc</i>	chromozom	fosfolipáza
beta	-	+	+	-	-	-	- <i>cpb</i>	plazmid	tvorba póru v PM
epsilon	-	+	-	+	-	-	- <i>etx</i>	plazmid	tvorba póru v PM
iota	-	-	-	-	+	-	- <i>lap/ibp</i>	plazmid	porušení cytoskeletu
CPE	-	-	+/ -	+/ -	+/ -	+	- <i>cpe</i>	plazmid/chr.	tvorba póru, apoptóza hemolyzin
NetB	-	-	-	-	-	-	+ <i>netB</i>	plazmid	



Clostridium perfringens - exotoxiny

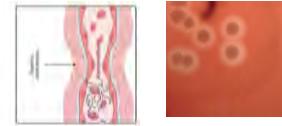
- **Polypeptidy s funkcí fosfolipáz** - poškození PM nebo vytvořeního póru → úniku elektrolytů/vody

- gen pro alfa (α) toxin (*plc*) u všech toxinotypů *C. perfringens* na chromozomu
- geny kodující ostatní toxiny jsou přenášeny na velkých plazmidech
- gen pro enterotoxin může být vázaný buď na chromozomu nebo plazmidu
 - u izolátů alimentárního průvodu je obecně nesen na plazmidu
 - u izolátů z lidí (alimentární intokikace) většinou na chromozomu (70 %)
 - všechny toxiny kromě CPE jsou využívány vegetativními bakteriemi
 - enterotoxin se uvoľňuje při sporulaci a lyze bakteriálních buněk



Alfa toxin

- je produkovan všemi toxinotypy *C. perfringens*; množství toxinu se liší podle izolátu i typu
- je to fosfolipáza C (sphingomyelináza, lecitináza), která se váže na buněčné membrány a způsobuje narušení lipidové dvojvrstvy
 - toxin má **hemolytický a dermonekrotický účinek**
 - hydrolyzou lecitinu (součást buněčných membrán) uvolňuje **diacylglycerol**
 - ❖ stimuluje kaskádu kyseliny arachidonové → změny v permeabilitě cév
 - agregace krevních destiček a vazokonstrikce



Beta toxin

- Beta toxin je **produkován kmeny *C. perfringens* typu B a C**
 - kódován na velkém plazmidu, štěpen proteázami střeva na aktivní toxin
 - **cytolysin** tvůrící pory do PM a je podobný obdobným toxinům jiných bakterií
 - enteritida způsobená β toxinem je charakterizována nekrózou a zánětem střevní sliznice s krvácením do lumen
 - rychle degradovaný trypsinem

- proto infekce způsobené *C. p.* typu B a C se obvykle vyskytuje u mláďat přezvýkavců mladších 10 až 20 dnů při nízké sekreci trypsinu nebo častejší kvůli přítomnosti inhibitorů trypsinu v kolostru a mléce
- onemocnění se může objevit i později, pokud jsou v krmivu bakteriální nebo rostlinné inhibitory trypsinu (sójový lepek)



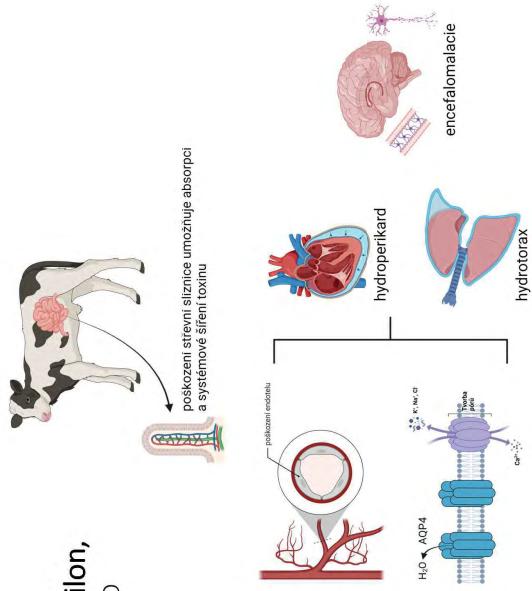
Epsilon toxin

- gen pro toxin (*etx*) **nesou kmeny *C. perfringens* typu B a D**
 - gen je kódován na velkém plazmidu
 - aktivován střevními proteázami, včetně trypsinu a chymotrypsinu
 - je to třetí nejúčinnější bakteriální toxin po botulotoxinu a tetanospasminu
 - pokusy na jehněatech, kůzlatech a telatech ukázaly zvýšenou permeabilitu cév, což je primární účinek epsilon toxinu ve střevě
 - poškození střevní sliznice vyuvolané toxinem umožňuje **zvýšenou absorpcí a systémové šíření toxinu**
 - to má také za následek **systémové poruchy u přezvýkavců (enterotoxemie)**



Epsilon toxin

- narušuje membránový transport K^+ , Cl^- , Na^+ a Ca^{++} v postižených buňkách
- dochází také k nadmerné exprese proteinu membránového kanálu **aquaporinu-4**, narušení intracelulární rovnováhy vodného prostředí
- narušení endotelu - vaskulární léze a edém tkání srdce, plic a mozku,
 - perikardiální a pleurální výpotek, edém plic a perivaskulární edém mozku
- poškození hematoencefalické bariéry a poskytuje přístup toxinu k mozkovým neuronům a astrocytům
 - poškozením vzniká charakteristická fokální symetrická **encefalomalacie**



Účinek toxinu epsilon,
(+alfa) *C. p.* typ B a D



C. perfringens typ D

- nejčastěji jsou postižena toxinem epsilon rostoucí jehňata, ačkolи enterotoxemie se může také vyskytovat u dospělých ovcí
- postižená zvířata jsou často nalezena mrtvá bez předchozího projevu nemoci
- enterotoxemie spojená s toxinem epsilon je také poměrně běžně diagnostikována u koz všech věkových kategorií
- onemocnění skotu bylo potvrzeno jen vzácně



C. perfringens typ C

- Enterotoxemické onemocnění způsobené *C. perfringens* typu C bylo popsáno u telat v USA (Garcia a kol., 2013)
 - u telat probíhala dva dny až čtyři týdny enteritida s hemoragickým nebo tekutým střevním obsahem a histopatologicky průkazem koagulační nekrozy střevní sliznice
 - ve střevním obsahu těchto zvířat byl potvrzen beta toxin



Enterotoxické klostridie

- podezření na nemoc je často založeno na identifikaci *C. perfringens* typu A nebo na detekci α toxinu u zvířat s enteritidou, která může být dysenterické povahy (hemoragicko-nekrotické enteritidy telat)
- dosud není jasné, zda kmeny *C. perfringens* typu A izolované z případů enterotoxemie jsou virulentnější než kmény typu A ze zdravého skotu
- zásadními faktory pro vytvoření enterotoxemie jsou alfa toxin, fosfolipáza C, a perfringolysin O a cytolyzin

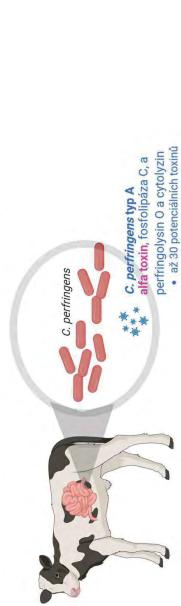


C. perfringens typ A - skot

- hodně se spekulovalo, zda *C. perfringens* typu A způsobuje enterotoxémii skotu
- podezření na nemoc je často založeno na izolaci *C. perfringens* typu A nebo na detekci α toxinu v obsahu střeva zvířat s enteritidou
- *C. perfringens* typu A se může izolovat ze střeva a výkalů zdravého skotu, proto má diagnostický význam pouze ve spojení s PA nálezem



Syndromy spojené s pomnožením *C. perfringens* typ A ve střevě skotu



Zdravý jedinec

- C. perfringens* typu A o virulence?

- akuni až perakutní syndrom
- mortalita 100%
- zmnofení *C. p.* v tenkém střevě s nadprodukcií toxinu

- toxiny působí jak lokálně, tak systémově něžněm několika minut až hodin
- patogeneze?

Zatím nejlepším prostředkem k prevenci zůstává pečlivé sledování a kontroly predisponujících faktorů.

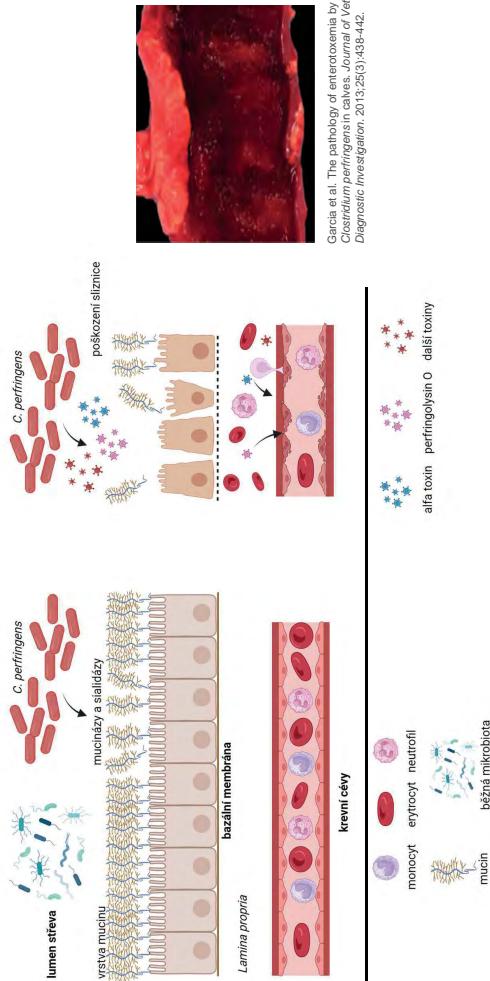
Enterotoxémie

- C. perfringens* typu A
- morbidita nízká
- mortalita 100%
- ekonomické ztráty
- patogeneze?

- postihuje teata v dobré až vynikající kondici
- bez varovných známek onemocnění
- krmena velkým množstvem mléka nebo mléčné náhrady

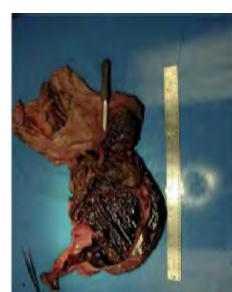
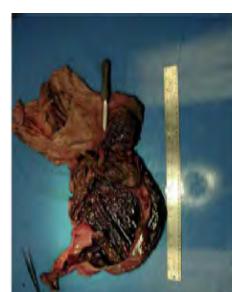
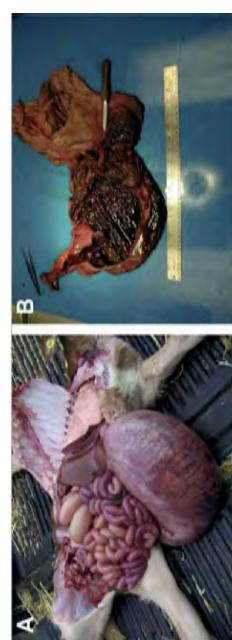
- bez varovných známek onemocnění
- krmena velkým množstvem mléka nebo mléčné náhrady

Patogeneze hemoragicko-nekrotické enteritidy a enterotoxémie



Garcia et al. The pathology of enterotoxemia by *Clostridium perfringens* in calves. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2013;25(3):438-442.

Klostridiová abomasitis a enteritis (*C. perfringens* typ A)



- (A) tympanický slez s tekutinou a plynem;
(B) hemoragický až nekrotizující zánět sliznice slez;
(C) Icerace slez u s nebo bez perforace
(D) fibrinózní peritonitida

Simpson et al. Vet Clin Food Anim 34 (2018) 155–184

Predisposiční faktory



Dietetické vlivy

Změny složení KO	- Náhlé změny v podilu uhlohydruátů a proteinů
Nedostatek vlákniny	- Oddělené zkrmování pice a koncentrovaného krmiva - Krátké řezaná pice
Nadmožná fermentace	- Přebytek šíkrbu z ječmenu/pšenice - Snížená velikost částic
Proteinová nerovnováha	- Nerovnováha mezi bílkovinami a energií - Vysoko rozpustný protein - Nadbytek nebílkovinného dusíku - Špatně fermentované sláče
Fermentace KO	- Vysoký obsah dusičnanů ve vodě nebo krmivu - Nekvalitní sláče - Teplé období a příliš vlhká KO - Krmivo se špatnou hygiennou krmení
Nepřavidelnosti v příjmu krmiva	- Hladovění a náhlé překrmení - Nedostatek míst u krmných žabů - Dostupnost vody a její teplota - Roční období a mikroklima stáje



Sušené mléko/mléčné náhražky pro telata

Popis a parametry produktu

- mléčné náhražky s nižší stravitelností proteinu mohou vést k nižším přírůstkům a k přemnožení klostridí v trávicím traktu telat

Složení:

- Pšeničný bílkovinný koncentrát 7,5 až 10 %
- Sójový bílkovinný koncentrát 7,5 %



Diagnostika enterotoxemie skotu

- výžaduje integrovaný přístup
- **náhly úhyn bez jakýchkoli varovných příznaků a přítomnost akutní hemoragické jejuno-ilieity s hemoragickým obsahem jsou vysoce specifické**
- je třeba vzít v úvahu dříve popsané informace o podmínkách chovu a spouštěcích faktorech
- výsledky laboratorních rozborů podporují terénní podezření
- ideálním vzorkem získaným při pitvě je podvázaná střevní klička v místě hemoragicko-nekrotické léze pocházející z čerstvě uhynulých zvířat (do 3h)
 - *C. perfringens* je součástí normální mikrobioty a může se rychle množit do vysokých počtů



Diagnostika enterotoxemie skotu

- anaerobní růst na krevním agaru je zlatým standardem pro potvrzení terénního podezření na enterotoxemii způsobenou *C. perfringens*
- u skotu jsou **počty vyšší než 10^6 až 10^7 cfu/ml střevního obsahu** považovány za charakteristický znak přemnožení *C. perfringens* a za potvrzení podezření z terénu
 - hranici počet CFU/KTJ zůstává diskutabilní a liší se podle autorů
- identifikace genů kódujících toxiny (cpb, etx, iap-ibp, cpb2, cpe) mohou být lokalizovány na mobilních elementech (plazmidy nebo transpozony), které mohou při manipulaci v aerobní atmosféře a subkultivaci vymizet



Diagnostika enterotoxemie skotu

- k dispozici jsou komerční sady založené na detekci toxinů specifickými protiátkami přímo ve střevním obsahu
- rychlé a snadno použitelné v diagnostickém laboratoři, například ELISA (Bio-X) nebo latexové agglutinační kity
- **toxiny jsou rychle degradovány ve střevě proteázami !**
- pozitivní výsledek je smysluplný, ale negativní výsledek nelze interpretovat



Profylaxe

- enterotoxemie skotu je perakutní syndrom s úmrtností téměř 100 %, proto neexistuje žádná účinná léčba
- preventivní opatření jsou důležitá a měla by být uplatňována, když jsou v chovu zjištěny některé rizikové faktory nebo když některá zvířata hynou na enterotoxemii a jiná zvířata stejně zatížená ne



Management

- **správná chovatelská praxe je zásadní**
- zajistit pozvolný přechod při změně složení krmné dávky (vláknina) (rovnováha střevní flóry)
- vyvarovat se stresovým situacím souvisejícím s krmením nebo prostředím (náhlá změna KD nebo přeskupení zvířat)



Vakcínace

- existují komerčních vakcín proti klostridiové enterotoxemii přežívýkavců
- všechny vakcíny prodávané v EU obsahují alespoň jeden z toxinotypů *C. perfringens* a většina obsahuje toxoidy toxinu beta a epsilon
- obvykle přítomno i několik dalších klostridiových druhů/toxoidů: *C. chauvoei*, *C. novyi*, *C. sordellii*, *C. septicum* a *C. tetani*
- několik vakcín obsahuje také antigeny bakterií, jako je *Mannheimia haemolytica* nebo enterotoxigenní *Escherichia coli*



Vakcína proti enterotoxemii skotu

- Neexistuje experimentální model syndromu enterotoxemie skotu
 - účinnost nelze ověřit *in vivo*, v porovnání s malými přežv. a prasaty u skotu vakcinace někdy selže
 - nicméně v terénních studiích sérokonverze pozitivně koreluje s množstvím antigenu přítomného ve vakcíně
 - vakcinační schéma poskytuje výrobce vakcíny, např. při riziku časných infekcí novorozených telat – vakcinace krav v 7 a 8 měsíci březosti



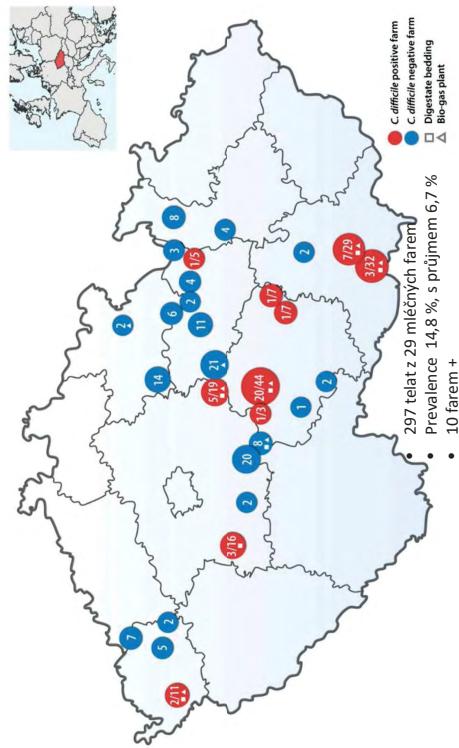
Antibiotika

- ve vzácných případech enzootické formy syndromu se někdy doporučuje podávat antibiotika a/nebo hyperimmunní sérum proflykticky, aby byla chráněna všechna zvířata žijící ve stejných podmínkách a byla vystavena stejněmu iniciačnímu stresu
 - antibiotika jako penicilin G mohou zabránit množení *C. perfringens* a produkci nového toxinu (toxinů), ale nemají žádný vliv na již vyprodukované toxiny
 - *C. perfringens* má obvykle nízkou rezistenci vůči antibiotikům, ale může ziskat mnohonásobnou rezistenci v případě častého používání antibiotik na farmě



Probiotika

- V rámci enzootické formy s běžným initiačním stresem by podávání probiotik preventivním způsobem mohlo pomoci střevní flóře překonat stres
 - Některé z probiotických organismů se také používají jako stimulátory růstu



Výskyt *C. difficile* u telat na mléčných farmářích v ČR

Rizikové faktory spojené s výskytem *C. difficile* na mléčných farmách v ČR

Risk factors	Odds ratio	95% CI, low	95% CI, up	P value	P value*
Bio-gas plant on the farm	5,3333	0,9282	30,6045	0,0606	0,0834
Usage of digestate I for bedding	27,0000	2,5034	291,1988	0,0066	0,0026
Mastitis therapy in dry period	1,4286	0,2233	9,1376	0,7064	1,0000
Milk production per cow >10 000 l	8,5000	1,2471	57,9331	0,0288	0,0302
Type housing of calves	0,5926	0,0534	6,5719	0,6659	0,2680
Type housing of cows	2,1250	0,2519	17,9273	0,4884	0,5920
Size of cow herd > 200 heads	1,6970	0,3323	8,6661	0,5250	0,6942



Gangrenózní mastitis ovce



Foto dr. Bezděková

Foto dr. Bezděková

Gangrenózní mastitis ovce

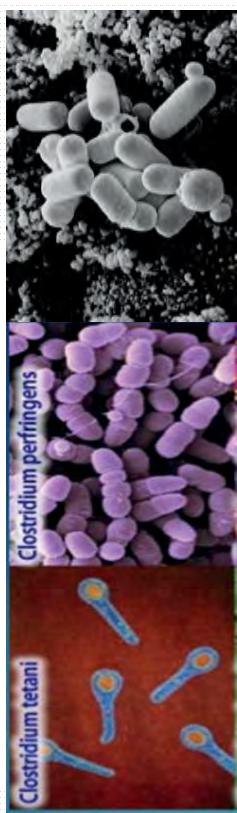


Clostridium perfringens



Klostridiové infekce: Vyčkávat, nebo předcházet ?

•Pře se rok 2018



MVDr Libor Borkovec
VÚVEL Brno



.... zpráva z jedné Holstein farmy o 420 kravách
základního stáda...

Kazuistika 1...



•Pře se rok 2018

•**2. května:** odpoledne - bez zjevných/zjištěných příznaků hyne náhle první kráva (*do krávy se nikdo nepodívá, je to bez odběru biol. materiálu*)

•**3.května:** ráno – nevstávají 4 krávy (na vrcholu laktace - užitkovost 38-50 l)

- Mají zastavené bachory; slabost pohybového aparátu; mírně zvýšená srdeční frekvence; bez teploty; výtok slin
- *Otevírá se jim krev na biochemii*

•**4.května:** ráno – nevstává dalších několik krav se stejnými příznaky

- Dojírna ukazuje razantní propad produkce mléka.
- Předchozí biochemie nic moc neuukazuje
- *následují další odběry krve...*

- Příše se rok 2018
 - **5.května:** ráno – úhyb 2 kusů + přibylo dalších několik nevstávajících krav.
 - Zvídřata s nejhoršimi příznaky jsou odeslána na jatka.
 - Laboratoř ukazuje zvýšenou glukozu, ureu, fosfor. Krevní obraz v normálu

- Píše se rok 2018
 - 8.května: – další
 - 16.května: – bájkou

- Postřízené kusy jdou na nucené odporažení.
 - Odebrány orgány na laboratorní vyšetření (pozn. red. 4 den po úhybu prvního kusu) a postřízení řádově desítka kusů

Potenc. ztráta

- 70 úhrnů/odporažení (27 prvoletek; 22 druhých laktací; 21 třetích a vyšších laktací)
 - 60 laktaciní den

Ztráta úhrynek = $70 \times 15\ 000 = 1\ 050\ 000,-$ Kč (nezapočítán náklad na kafllerii)

Ztráta na produkci:

 - Ztráta 245 LD = ztracených 17150 LD $\times 34 = 583\ 100,-$ Kč
 - $583\ 100 \times 9,0\text{ Kč} = 5\ 247\ 900,-$ Kč

• Ztracené produkce

Ztráta na prvoletkách:

- Při průměrné laktaci = ztráta 1,4 l/katce/ks = 427 LD/kd
- 27 prvoletek x 427 = 11 529 ztracených LD
- 11 529 LD / ~300 dny = ~38,4 LD/den

Celkem: 97 mil Kč

Ekonomický pohled na kazuistiku č. 1

- | | | |
|---|-------|-----------------------|
| • Úhyn, nebo nucené odpořádání 70 ks \times 15 000,- Kč | | 1 050 000,- Kč |
| • Užitkovost H za všechny laktace v r. 2018 = 10 200 l | | |
| • 70 ks mohlo být v různé fázi laktace – tak vezmém $\frac{1}{2} = 5\ 100!$ | | |
| • Výkupní cena mléka v r. 2018 byla 8,60 Kč | | |
| • 5100 \times 70 \times 8,60 | | 3 070 200,- Kč |
| • Nezapočítány náklady na kafílery, odpořázení, práci navíc..... | | |
| • Celkově | | 4 120 200,- Kč |

Kazuistika 2

Kazuistika 2

- Dlouhodobě velká nemocnost telat do dostavu - cca 60 % musí být přeléčeno

- Přesná čísla nemocnosti nebyly schopni předložit - protože vedi pouze sešít prvoční evidence bez lepšího rozboru nemocnosti
- Odhad: Z celkového počtu nemocných cca polovina na průjmy, zbytek na chřipky

- Management farmy - velcí experimentátoři, tak vyzkoušeli:

- Medicinální jíly
- Huminové kyseliny
- Asi 4 produkty podporu imunity



... aneb příběh jedné farmy ČESTR o 800 kravách základního stáda



Snímek 10
LB2
Libor Bohdovský, 29.04.2024

Kazuistika 2

- Moje zainteresování příšlo v době, kdy už nezůstalo jen u nemocnosti, ale telata začala hynout - 15% ztrát.

- Inicioval se odvoz 3 čerstvě uhynulých telat do SVÚ na vyšetření:
 - Kompletní patologické vyšetření
 - Kompletní bakteriologie a virologie parenchymu
- Výsledkem bylo:
 - Potvrzení klostridiové infekce (*Clostridium perfringens*) s středním až těžkým postižením střev

Chovatel byl o znovu opakován zdůrazněno, že klostridie se nedají z prostředí vymýtit, díky jejich vlastnostem.....
.....Poté přistoupil chov na vakcinaci krav

Kazuistika 2

- Asi po půl roce chovatele oznámili, že s vakcínací končí, že **vakcína stojí za ho**o** protože se problemém jen o málo zmínil a jenom z něho tahám peníze !

To jsem odmítl a udělal **hlubší depistáž** na chovu:

1. Období mlezivové výživy
 - Na chovu nebyla kontrola nad včasností napojení mlezivem
 - Telata narozená po 20:00 hod. byla bez kontroly (kvalita spontánního napítí ?)
 - Napájelo se dle situace nativním, či zmraženým mlezivem
 - Rozmražovací proces mleziva nebyl pod kontrolou

Kazuistika 2

- **Kvalita mleziva** byla měřena hustotměrem-údajně (bez záznami) bezproblémová
- Mlezivo se získávalo v dojirnu u porodny.....



Snímek 13

LB1

Luboš Boháček, 18.12.2019

Kazuistika 2

Odběr krve (2-6 den) na obsah imunoglobulinů v krvi telat

Biochemické vyšetření	
	IgG g/l
Z 5 telat	vyhověla 2 !!!
CH 18557	6,8
CH 18558	12,6
CH 18559	2,6
CH 18560	7,9
CH 18561	12,9



Biochemické vyšetření	
	IgG g/l
Z 4 telat	vyhověla 0 !!!
CH 27033	1,3
CH 27034	1,1
CH 27035	3,4
CH 27036	7,3

Kazuištka 2

Byla zjištěna bídňá hygiena při manipulaci
a skladování mleziva

Výrobce:	pojist. vzdálost
Českob.	Mléko - aktuální
CH 2404	Mléko - nekontak.
CH 2405	
Biochemické vyšetření	
	25g
CH 2404	14,3
CH 2405	4

ODDĚLENÍ HYGIENY POTRAVIN	
Mikrobiologické vyšetření	
Mastnost mikrobiologické kontaminace (primokultivace)	
HP 25400	neobsah sporek, mikročástic
HP 25401	neobsah sporek, mikročástic
HP 25402	aerobní sporek, mikročástice
Enterokoky	
Clostridium perfringens	
Kfu/ml	
HP 18301	0
HP 18302	5x10 ⁶ 4x10 ⁶
Enterokoky	
Clostridium perfringens	
Kfu/ml	
HP 25400	2,2x10 ⁷
HP 25401	1,9x10 ⁶
HP 25402	9,1x10 ⁶

Bakteriální kontaminace, byť kvalitního mleziva snižuje jeho vstřebatelnost o 60% !!!

Jinými slovy můžete mít kvalitní mlezivo a kvalitně napojené tele – pokud s ním řádně nezacházíte, tak vynaložené úsilí (včetně vakcinace proti kolostriádům) je z větší části zmařeno!

Kazuištka 2

Přispívající faktory:

- bídňá hygiena napájení telat
- Napájecí nádoby s sytýofenými biofilmy vytvářejí vyšší infekční tlak a zvýfiala bez imunoglobulinu nejsou schopna se ubránit !!!



Aktuálně inkriminovaná farma.....

-pracuje na nápravě procesů kolem hygieny mleziva a napájení telat !!!

– Hodně to skřipe, protože personál je naštvaný, musí dělat pro ně nepopulární úkony – každá změna bolí !

Jakto dopadne ?

Farma čerpala ročně cca **1 mil. Kč** na zlepšení životních podmínek

zvírat

Náklady na vaky pro mlezivo pro tuto farmu..... 160 000,-

Náklady na primovakcínaci proti klostriidům..... 107 200,-

Roční náklady na pokračování vakcínace..... 70 000,-

Suma sumárum..... **337 200,-**

**Perfektní řešení pro hygienu mleziva je sada
sterilních vaku**



Apel !

Správnoá diagnostika:

- Klinika
- Pitva
- laboratoř

Příčiny klostridiových infekcí:

- dietetické chyby
- chyby v napájení kolostrem
- chyby v krmené technice
- poruchy motility GIT
- omezený přístup k vodě
- antimikrobiální preparáty
- příliš bohaté krmivo (uhlohydryáty, bílkoviny)

Prevence nemocí

•Co je prevence ?

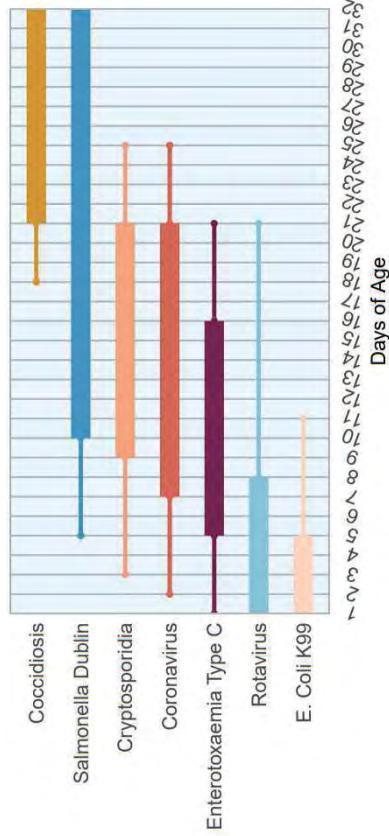
- není to jen vakcinace !!!
- je to dodržování správné chovatelské praxe !!!

DĚKUJÍ ZA POZORNOST !



PRŮJMY U TELAT – ČASOVÁ OSA

Obrázek 1: věková predispozice k průjmu u telat (Irsko)



AIA/DSR 2022 <http://www.animalhealthsurveillance.agriculture.gov.ie/>

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KRYPTOSPORIDIÓZA

Jak se teď nakazí kryptosporidiózou:

- porodna s nízkou úrovní zoohygieny
- ustájení telat – místa kontaminovaná po předchozích telatech (rotace místa, otázka hygiena ustájení, typ desinfekce aj.)
- ustájení telat – kontakt s nemocným teletem – problém zejména u skupin telat na krmných automatech (seskupování již od 5. dne stáří)

Obrázek 2: prevalence kryptosporidiózy u telat - Irsko
před odstavem ve světě

(Thomson et al. 2017)

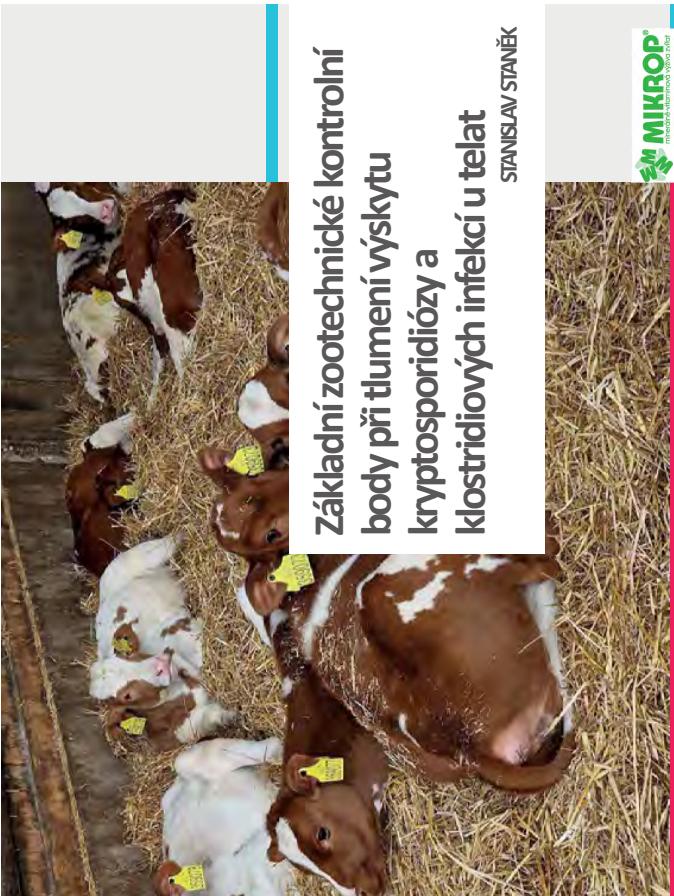
• 3,4 – 96,6 %

KRYPTOSPORIDIÓZA TELAT



MIKROP®
monitoring zdraví živočichů

3



Základní zootechnické kontrolní body při tlumení výskytu kryptosporidiózy a klostridiových infekcí u telat

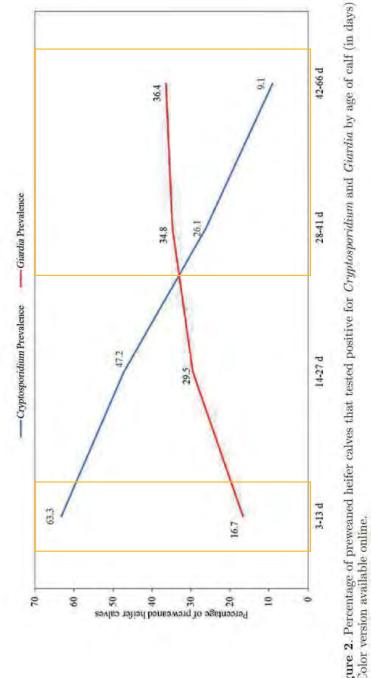
STANISLAV STANĚK

MIKROP®
monitoring zdraví živočichů

MIKROP®
monitoring zdraví živočichů

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KRYPTOSPORIDIÓZA

Obrázek 3: podíl jelenoviček s pozitivním nálezem kryptosporidie a giardie (104 chovů, 2249 vzorků)



ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KRYPTOSPORIDIÓZA

- zoohygiena ustájení - porodny
- protokol mlezirové výživy, včetně hygieny dojení
- protokol mléčné a nemléčné výživy
- kontrola kvality vody
- zoohygiena ustájení a rotace uštájovacích míst
- izolace nemocných zvířat
- protokol léčby a jeho plnění
- testování telat a evidence průjmu v chovu
- práce s ošetřovatelem

- kryptosporidióza je obtížně kontrolovatelná
- stabilita a odolnost oocyst
- nízká infekční dávka
- masivní vylučování sporul. oocyst při průjmu do okolí



5

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KRYPTOSPORIDIÓZA

zoohygiena poroden – zlatý klíč

- fekálně orální infekce
- kryptosporidie „miluje“ vlhké prostředí
- v ČR převažují teleti ve skupinových kotcích
- skupinové kotce, ale ani individuální nejsou v tuzemsku
- předmětem rutinní desinfekce a péče o podestýliku PO KAŽDÉM OTELENÍ
- design porodních kotců – projekty nereflektovaly aspekt užití mokré očistky a možnosti desinfekce po každém tele
- holubiny vers. sláňa – cena vers. střední sanítace
- vápenec, chloramin a j. vers. chlorkresoly, pára, louhy aj.
- EFSA doporučení – pobyt telet s krávou alespoň 24 hodin! – výzva nebo hrozba?



6



Cow-calf contact

Cow and calf need to be together for at least 1 day after birth.

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KRYPTOSPORIDIÓZA

mlezirová výživa telat

- o délce žitosti napájet telata kvalitním mlezirom v říme
- ochranná výživa telat mlezirom/směsným mlezirom (prodloužení periody), může pomoci v chovech se zhoršenou rákazovou situací
- stále v mnoha chovech (cca 1/4) se kvalita mleziiva kontroluje až „když příde zdravotní problém u telat“
- dlouhodobá evidence a elektronické hodnocení
- hygiena dojení je na mnoha chovech stále kámen úrazu (mimo dojímu/robotu)
- kontaminace mleziiva – fækální kontaminace – kryptosporidie – obsah dalších nežádoucích patogenů ve zvýšené míře

- Obrázek 4: obsah anti-C parvum IgG v mlezivu a výskyt kryptosporidii u telat



Lefkadiis et al., 2020



7

- Obrázek 5: mlezirová výživa telat
- C. parvum-positive calves
- C. parvum-negative calves



8

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KRYPTOSPORIDIÓZA

voda, mléčná a nemléčná výživa

- pravidelná kontrola vlastního zdroje – hygiena získávání a uchování (krypt. se v mléce nemnoží)
- **produkování periody krmení telat tranzitním mlékem** – 10 denní perioda
- **zachování mléčné výživy** (častější krmení malými dávkami) u telat, která mají o mléčné nápoje zájem
- **nemocným telatům nepodávat mléko sondou**
- **pastorování tranzitního mléka – 60 °C**
- **přídavek probiotik a prebiotik – konkurenční tlak – kyselina mléčná aj.**
- **starter/suchá TMR nesmí být „suchým WC pro koňky a hlodavce“**



ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KRYPTOSPORIDIÓZA

zoohygiena ustájení telat

- v zoohygieně velmi často polevujeme
- dostatečný počet ustájovacích kapacit:
- **kde je vlnko/mokro, je i potenciální problém**
- pravidelná výměna podešťky by měla být nosnou myšlenkou - v mnoha chovech je to IDEA
- **mytí ustájovacích ploch** – mechanická odstraňování, mytí, účinná desinfekce, opach = uschnutí a odpocínk míst (1 – 3 měsíce)
- **sříďání míst pro umístění boxů/kotců v rámci farmy – rotace je nezbytná**
- **EFSA – tvorba skupin 2 – 7 telat od 2. dne věku**



MIKROP®

9

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KRYPTOSPORIDIÓZA

izolace nemocných telat

- tele s příjmem je zdravotním rizikem pro ostatní telata v páru/skupině
- **problém je v chovech s AUS, kde nemáme konceptně často k dispozici IK/VIB**
- telata nemocná mají vždy své nádoby na krmení a pomůcky, krmení
- ustájení v čistém, suchém a řádně nastlaném kotci = tele s příjmem má NEB



ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KRYPTOSPORIDIÓZA

protokol léčby a jeho plnění

- **léčbu navrhuje VETERINÁRNÍ LÉKAŘ**
- **dnes v chovech 2 tábory** = preventivní medikace ANO vers. NE
- **měření tělesné teploty u telat musí být v chovu standardem**
- **pokud již v chovu je preventivní medikace (halofuginon, paromomycinum) – musí ji zootechnik řídit a kontrolovat** – časté problémy (podávání léčiv nalačno, povidákování či předávkování, plnoště užití ATB, kombinace halofug. a paromomycinu současně aj.)
- **vakcínae březích krav** – studie jsou k dispozici – pozitivní efekty



MIKROP®

11

MIKROP®

12

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

- zoohygiena ustájení - porodny
- protokol mleziarové výživy, včetně hygieny dojení
 - chyb v mléčné i nemléčné výživě
 - hygiena ustájení
 - pitvy
 - práce s ošetřovateli



MIKROP®
www.mikrop.cz

17

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

zoohygiena ustájení - porodny

- čistý a suchý porodní kotec – body protokolu stejně jako u kryptosporidiózy
- kontrola kvality podestýlky – nezaplísňená, bez obsahu zbytků půdy apod.
- **precizní ošetření pupečního provazce**
 - funkční desinfekční prostředek - vysušení
 - čerstvý desinfekční prostředek
 - opakování použití u telet – min. 2x v průběhu 24 hod.
 - rutinní kontrola pupku první týden věku teleta



MIKROP®
www.mikrop.cz

18

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

mleziarová výživa

- shodné body jako u kryptosporidiózy
- kvalitní mleziarová výživa je **základem** – nyní se část vědeckých týmů věnuje úloze IgA v mleziaru (ochrana povrchu sliznice, imunitní bariéra, protizánětlivé faktory)
- **využití potenciálu mleziava/směsného mleziiva**
- **ochranná výživa** – prodloužení peridy krmení – 2 týdny
 - **maximální využití benefitu v chovech, ke je nastavena vakcína stáda**



MIKROP®
www.mikrop.cz

19



MIKROP®
www.mikrop.cz

20

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

mléčná výživa telat I.

- rozdíl mezi nativní mléko vers. MKS
- rizikové jsou obecně – vysoké objemy mléčného nápoje = ↑ 20 % z ž. hm. telete
- složení MKS – a) ↑ obsah laktózy; b) obsah proteinu a jeho kvalita (mléčný vers. rostlinný)
- syrovátká (mléko, MKS) má ideální skladbu AMIK umožňující „přeruštání“ klostridií
- koncentrace MKS v 1 l mléčného nápoje
 - a) do 125 g MKS na 1 l vody – nízká
 - b) 145 – 160 g MKS na 1 l vody – optimální
 - c) 160 – 200 g MKS na 1 l vody – vysoká

MIKROP®
www.mikrop.cz

21



ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

pro nedávat elektrolyty do mléčného nápoje, aneb, jak „nahrát klostridii“

- cíl rehydratace VODA + elektrolyty (sacharidy a Na = výsoce osmotické)
- osmolalita ml. nápojů (mléko cca 300 mOsm/kg, MKS max. do 450 až 500 mOsm/kg)
- osmolalita ↑ 600 mOsm/kg = zpomalení vyprazdňování slezu
- zpomalení vyprazdňování
 - explozivní růst bakterií, vč. klostridií
 - tvorba plynů, toxinů a kyselin = abomasální nadmutí (nafouknutí skřipání zuby, slinění, „šplouchání v bříse“ aj.)

Quigley, 2019

MIKROP®
www.mikrop.cz

22



ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

mléčná výživa telat II.

- intenzivní mléčná výživa telat = velké porce = podmínkou je min. 3x denní krmení (krmení přes AKS)
- technika krmení – volná hladina jako faktor rizika ve vztahu ke klostridiím (trávení mléčného nápoje)
- nízký průtok přes cūcáký je ideální pro produkci trávících enzymů
- krmení ve stejnou dobu
- stres (tvorba skupin, převoz, vakcína, odrobování aj.) = post-stresová modifikace mikrobiomu TT – pozor na změny v krmení

NEDĚLEJME Z TELAT POTÁPĚČE



ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

- nemléčná výživa
 - startery – jejich složení a jejich výšší příjem v prvních týdnech života může být jedním z rizikových faktorů
 - startery
 - ↑ obsah a kvalita proteinu – sojá natív. – inhibitor trypsinu
 - struktura sacharidové složky – pěnice vers. kukuřice, melasa..
 - ↓ obsah vlákniny
 - konzervovaná krmiva u telat na mléčné výživě
 - ovlivnění činnosti bactoru - kvásinky
 - dietetické chyby – obvykle 24 až 36 hod. před smrtí zvířete



MIKROP®
www.mikrop.cz

23

MIKROP®
www.mikrop.cz

24

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

stres

- stres
- omezená dostupnost nemléčných kŕmiv, zemnéna u teliat na AKS
- náhlé změny v krmné dávce
- tvorba skupin
- převoz
- valčinace
- odrohovalní aj.
- post-stresová modifikace mikrobiomu TT je prokázaná
- pozvolné 14denní návyky pri změnách KD – adaptacie TT na nové krmivo



ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

hygiena ustájení

- mytí ustájovacích ploch - mechanická čistota, předmytí, mytí, účinná desinfekce, opach = uschnutí a odpočínek mýsta (1 – 3 měsíce)
- střídání míst pro umístění boxů/kotců v rámci farmy – rotace je nezbytná



ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

vyšetření a pitvy

- „náhlé nám uhynula telata, nevíte co by to mohlo být?“
- náhlé úhyny a jejich pitva by měla být automatická a velmi časná
- střejněji kooperace s vst. ustanovy – příjem kadavérů a vzorků je obvykle 24/7
- bez náležů z SVÚ velmi často nelze uplatnit pojistnou událost!



ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

hygiena ustájení

- mytí ustájovacích ploch - mechanická čistota, předmytí, mytí, účinná desinfekce, opach = uschnutí a odpočínek mýsta (1 – 3 měsíce)
- střídání míst pro umístění boxů/kotců v rámci farmy – rotace je nezbytná



ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

testování úrovně mikrobiální kontaminace v chovu

	Celkový počet mikroorganismů	Clostridium perfringens	Clostridium perfringens
HP 41243	stér č. 1 - jícnová sonda (proj)	HP 41243	<1x10 ¹
HP 41244	stér č. 2 - jícnová sonda	HP 41244	<1x10 ¹
HP 41245	stér č. 3 - duoplátko	HP 41245	2,8x10 ⁷
HP 41246	stér č. 4 - duplák nádoba	HP 41246	1,8x10 ⁷
HP 41247	stér č. 5 - konec dojení	HP 41247	>3x10 ⁷
HP 41248	stér č. 6 - konec IB stér	HP 41248	<1x10 ¹
HP 41249	stér č. 7 - strukova navlečka	HP 41249	1,4x10 ⁶
BA 41250	stér č. 8 - automat	HP 41250	2,5x10 ⁷
BA 17471	stér č. 6 - konec IB stér	HP 41250	1,3x10 ⁷
BA 17472	stér č. 8 - automat		2,6x10 ⁷

ZOOTECHNICKÉ KONTROLNÍ BODY - KLOSTRIDIÓZA

komunikace s ošetřovatelem

- denní kontrola zdraví zootechnikem
- vyžadování informaci o telatech se změnou chování či příznaky onemocnění
- telata s nezájmem o mléčný nápoj – evidence nevytipých zbytků
- evidence „naftuklých telat“ – protokol co s teletem, které je naftuklé
- kontrola přípravy rehydratační terapie
- ošetřovateli – ne do mléčných nápojů!
- označování kotců s nemocnými telaty
- kontrola zážnamů a jejich centrální evidence
- čistota oblečení, obuví a rukou
- kontrole výrobcům mleka



MIKROP®

29



Děkuji za pozornost!



Stanislav Staněk
+420 602 751 833
stanislav.stanek@mikrop.cz
www.mikrop.cz

Seznam použité literatury

- All-Island Animal Disease Surveillance – 2022, dostupné z: <http://www.animalhealthsurveillance.agriculture.gov.ie/media/animalhealthsurveillance/2022-All-Island-AnimalDiseaseSurveillance.v2.pdf>
- Gopert A, Chalmers RM, Whittingham S, et al. An outbreak of Cryptosporidium parvum linked to pasteurised milk from a vending machine in England: a descriptive study. March 2021; Epidemiology and Infection: 2022;150:e195. doi:10.1017/S095026882201613.
- Lekafidis M, Mparamaglis R, Sessoudou A, Spanoudis K, Tsakiroglou M, György A. Importance of colostrum IgG antibodies level for prevention of infection with Cryptosporidium parvum in neonatal dairy calves. Prev Vet Med. 2020 Mar;176:104904. doi: 10.1016/j.prevetmed.2020.104904. Epub 2020 Feb 7. PMID: 32066023; PMCID: PMC7114226.
- Quigley, J. Calf Note #206 – Adding electrolytes to milk or milk replacer. <https://www.calffnotes.com/en/2019/04/07/calf-note-206-adding-electrolytes-to-milk-or-milk-replacer/>
- Thomson S, Hamilton CA, Hope JC, Kutzer F, Mabbutt NA, Morrison LJ, Imas EA. Bovine cryptosporidiosis: impact, host-parasite interaction and control strategies. Vet Res. 2017 Aug 1;48(1):42. doi: 10.1186/s13567-017-0447-0. PMID: 28800074; PMCID: PMC553596.
- N.J. Urié, J.E. Lombard, C.B. Shively, A.E. Adams, C.A. Kopral, M. Santini Peweanaled heifer management on US dairy operations: Part III. Factors associated with Cryptosporidium and Giardia in preweaned dairy heifer calves. Journal of Dairy Science, Volume 101, Issue 10, 2018, Pages 9199-9213, ISSN 0022-0332, <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14060>.
- Ursini T, Moro L, Requejana-Méndez A, Bertoli G, Buiorrate D. A review of outbreaks of cryptosporidiosis due to unpasteurized milk. Infection. 2020 Oct;48(5):655-663. doi: 10.1007/s15010-020-01426-3. Epub 2020 Apr 15. PMID: 32297163.

Přidejte zápis!

V Magdaleni Š. III. 1943.

Kováčková Š.

Milé žádky v upomínku

*K vodicium svým milým,
také lásku méj
a k všechnym skuhom
majíci jim děj!*

Výskyt klostridií v objemných krmi vech a jejich vliv na koncentraci ve výkalech dojnic.

MUDr. Hana Synková
Ing. Václav Jambor, CSc.
NutriVet, s.r.o.
www.nutrivet.cz

14.5.2024 vUVeL, BRN

Nejběžnější škodlivé mikroorganismy výskytující se v silážích:

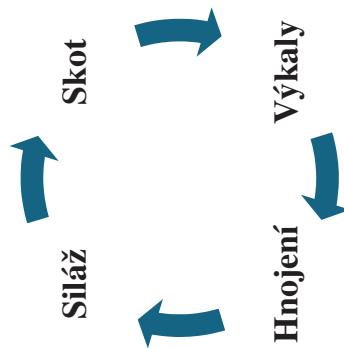
Escherichia coli O157:H7
Listeria monocytogenes

Bacillus

Salmonella

Clostridium

Cyklus spór klostridií



Rod *Clostridium*

- G+ aerobní sporující bakterie
- Schopnosti:
 - **Sacharolytické** – využívají monosacharidy, ale i oligosacharidy a škrob, popř. celulózu
 - **netvori** jedovaté biogenní aminy
 - **tvorí** kyselinu máselnou
 - **proteolytické** – uplatňují se při anaerobním rozkladu bílkovin
 - **tvorí** jedovaté biogenní aminy
 - Pozn.: Biogenní aminy se běžně nestanovují. Stanovení BA zavedl pomocí kapalinového chromatografu Prof. Kalač na Jihočeské univerzitě v Českých Budějovicích. Lze je stanovit i v Ostravě – Ing. Pavelka.
 - **tvorí** kyselinu máselnou

Obsah a kvalita N-látek

Proteolyza	deaminace	Aminokyselina dekarboxylácia	NutriVet
$R - CH_2 - COOH$	$R - CH_2 - COOH$	$R - CH_2 - NH_2$	$R - CH_2 - NH_2 - CO_2$
NH_3			biogenetí aminy
α,β-dekarboxylová kyselina + ε-gamaevk			
arginin	Ornitin	Lyzín	Kádaverin
histidin	Histamin	Tryptofan	Tryptanin

Doporučené limity

- **Klostridie ve výkalech:** < 5×10^4 CFU / g
 - Opakováně vysocký obsah spór ve výkalech, doporučujeme provést:
 - Kontrolu konzervovaných krmiv
 - Kvalitu fermentačního procesu vč. aerobní stability
 - Suma **kyseliny máselné nad 1 % ze sušiny** – předpolad zmnožení, popř. tvorba spór v siláži => siláž se nesmí zkrmovat dojnicím
 - Suma **kyseliny máselné pod 0,1 % ze sušiny** – nejsípše silná kontaminace při silážní
 - Stanovení klostridií u siláže ze tří různých míst, kvůli možné mikrobiální heterogenitě siláže
 - **Klostridie v konzervovaných krmivech:** < 10^4 CFU / g krmiva
 - Díky využívání využívání se nesmí tato siláž zkrmovat dojnicím

Závislost mezi kyselinou máselnou a spórem klostridií v silážích

Kys. máselná % čerstvé	Četnost siláří		
	hmoty	malá počty spór	vysoká počty spór
≤ 0.2	80 %	20 %	
0.2 – 1.0	35 %		65 %
1.1 – 2.0	37 %		63 %
> 2.0	14 %		86 %

Počty spor klostřidií v silážích a výkalech dojnic

Ošetření	Klostridia , CFU/g siláže
Siláže	Výkaly
(n = 8)	(n = 24)
Kontrola (bez additiva)	18 700 40 ... 90.000
Additive (chemický přípr.)	47 600 1.600 ... 370.000 <40 <1 ... 15

Kvantitativní stanovení bakterií rodu *Clostridium*

Metoda podle Prof. Pahla

- Odběr vzorků



- Příjem vzorků (siláž, senáž, výkaly, ...)

Zpracování vzorku

- 10 g vzorku
- 90 ml peptonové vody
- Třepat 1 hod
- Na 1 vzorek nachystat 6 skleněných zkumavek

pro přípravu desetinného ředění

- Do zkumavek pipetujeme 8,5 ml DRCM
- Vložíme Durhamovo trubičku s 0,5 ml DRCM směrem dolů
- Zkumavky uzavřeme kovovými



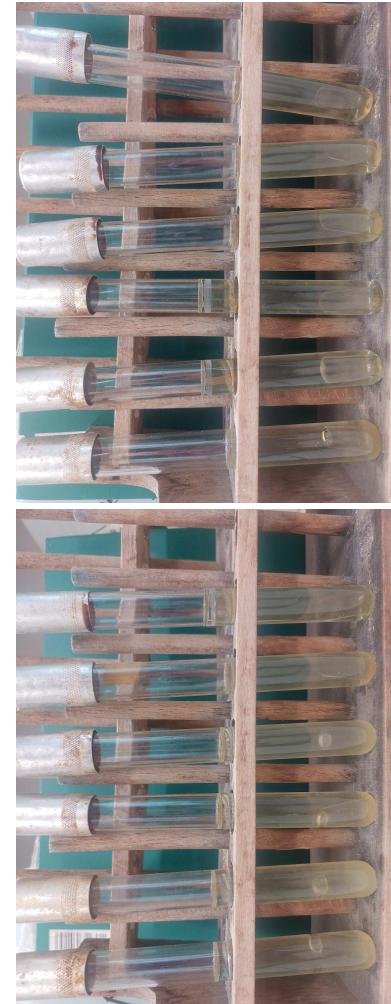
- Takto připravené zkumavky vysterilizovat při 120 °C, až Durhamovy trubičky vyskočí nahoru, vyndat zkumavky a nechat zchladnout.



- 25 ml připraveného vzorku vařit v titrační baňce 15min při 80 °C a poté nechat zchladnout.
- V očkovacím boxu do každé zkumavky kapátkem kápnout 3 kapky roztoku citranu železitého a siřičitanu sodného.

- Pak připravit desetinné ředění roztoku vzorku, který opakujeme u všech 6ti zkumavek.
- Nakonec kápnout trochu oleje, aby se zamezilo přístupu vzduchu a uzavřít zkumavku kovovým víčkem.
- Dát do termostatu využátného na 37 °C a po 8 dnech vyhodnotit.
- Přítomnost bakterií rodu *Clostridium* = tvorba vzduchové

- Podle toho, ve které zkumavce z deseti inného ředění dojde k tvorbě vzduchové bubliny, určíme výsledek, který se udává v CFU / g.



Výsledek
y
hodnoce
ní z
chovu
dojnic
ze dne
3 . 5 . 202
4

		sůšina %	Clostridia CFU * g	škrob %
Kukuričná siláž		35,84	10 . 10 ²	
Vojtěšková senáž		25,63	10 . 10 ²	
Žitná senáž		22,96	10 . 10 ³	
Výkaly dojnice				
vzorek č.1				10,15
vzorek č.2				13,29
vzorek č.3				14,09
vzorek č.4				13,84
průměrný vzorek		14,13	10 . 10 ⁵	7,99

Závěr

- Ochrana a zlepšení hygieny výroby krmení, znamená hlavně snížení spor klostridií v silázi a krmivech.
- Vycházíme ze systému kvality, který je založen na schváleném konceptu HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) v EU.
- Obsah spor klostridií ve výkalech a krmivech je nejkritičtějším bodem v systému výroby živočišných produktů.
- Hlavní činností naší firmy je vytvářet v jednotlivých chovech systém konzervace statkových krmiv a tím minimalizovat náklady na nakupovaná krmiva.
- Výsledky monitorování spór klostridií v zemědělských provozech nabízíme jako doplňkovou službu k naší obchodní činnosti.

Děkuji za pozornost!

nutrivet@nutrivet.cz

Copyright:

Výzkumný ústav veterinárního
lékařství, v. v. i. Brno
Hudcová 296/70, 621 00

Tel.: +420 773 756 631
E-mail: vri@vri.cz

www.vri.cz