

Streszczenie

Zaburzenia laktacji u loch stanowią częsty i ważny problem w hodowli świń. Ze względu na złożoną etiopatogenezę wczesna diagnostyka poporodowego zespołu upośledzenia mleczności (PDS) jest trudna i jak dotychczas opiera się w zasadzie o badanie kliniczne prowadzone w pierwszych dniach po porodzie.

Z praktyki terenowej wynika, że rozpoznanie zaburzeń laktacji ma miejsce najczęściej w 2-3 dobie po porodzie, czasem później. Konsekwencją tego jest wprowadzenie odpowiedniego leczenia loch dopiero w 2 – 3 dobie życia prosiąt. Okres pierwszych kilku dni po urodzeniu jest kluczowy dla przeżywalności osesków oraz ich dalszych losów w stadzie. Fizjologicznie prosięta rodzą się z niskim zapasem energetycznym oraz zerową odpornością bierną, a ich układ immunologiczny nie jest jeszcze w pełni sprawny. Dlatego też pobranie dostatecznej ilości dobrej jakościowo siary, a w dalszej kolejności mleka jest elementem niezmiernie ważnym. Warunkuje przeżycie oseska a później jego zdolności do szybkiego wzrostu i adaptacji w stadzie.

Odpowiednio dobrane leczenie zaburzeń laktacji prowadzi najczęściej do cofania się zmian klinicznych u loch, jednakże straty związane z przyjęciem niedostatecznej ilości siary przez prosięta są w zasadzie nie do odrobienia. Zidentyfikowanie wczesnych markerów zaburzeń laktacji otworzyłoby drogę do dalszych badań nad opracowaniem i skutecznością profilaktyki zaburzeń laktacji u loch.

Wyniki szeregu doświadczeń wykazały, że użytecznymi markerami różnych stanów patologicznych u ludzi i zwierząt mogą być białka ostrej fazy (BOF) i cytokiny. Dotychczas brak jednak było informacji na temat ich przydatności diagnostycznej we wczesnej diagnostyce zaburzeń okołoporodowych, w tym zaburzeń laktacji u loch. Nie prowadzono także kompleksowych badań dotyczących kinetyki zmian stężeń BOF i cytokin w surowicy loch z fizjologicznie, jak i patologicznie przebiegającym okresem okołoporodowym. Dane te są niezbędne do określenia możliwości wykorzystania BOF i/lub cytokin w rozpoznawaniu zaburzeń okresu okołoporodowego.

Biorąc powyższe pod uwagę w badaniach własnych zaplanowano oznaczenie stężeń wybranych BOF (CRP, Hp, SAA oraz Pig-MAP) i cytokin (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α) w surowicy loch z fizjologicznie i patologicznie przebiegającym

okresem okołoporodowym oraz ocenę możliwości wykorzystania badanych markerów we wczesnej diagnostyce zaburzeń laktacji u loch. Są to pierwsze tego typu badania prowadzone u świń.

W badaniach wykorzystano 139 loch pochodzących z dwóch stad wielkotowarowych zlokalizowanych na terenie województwa lubuskiego i wielkopolskiego.

Kryteria niezbędne do zakwalifikowania stada do badań obejmowały: pełny cykl produkcji, pełna dokumentacja produkcyjna, profesjonalny nadzór lekarsko-weterynaryjny, pojawiające się problemy z laktacją (z kliniczną manifestacją choroby).

W wybranych do doświadczenia stadach przeprowadzono badania *in vivo* na loszkach i lochach w okresie okołoporodowym (definiowanym na potrzeby niniejszej dysertacji jako okres od 28 dnia przed porodem do 28 dnia po porodzie). W trakcie badań monitorowano stan kliniczny samic oraz pobierano próbki krwi do dalszych analiz. Nadzorowi lekarsko-weterynaryjnemu podlegał cały okres okołoporodowy objęty badaniami. Dla każdej lochy założono kartę badania uwzględniającą szereg parametrów klinicznych i produkcyjnych.

Na podstawie przebiegu okresu okołoporodowego lochy zostały podzielone na 3 grupy: ZDROWE (n=58); PDS (n=45) i INNE (n=36). Próbki do badań stanowiła surowica uzyskana z krwi pobranej od samic w okresie okołoporodowym. Analizie poddano po 11 próbek surowicy od każdej lochy. Do określenia stężeń BOF i cytokin w surowicy loch wykorzystano komercyjne, ilościowe testy ELISA. Metodyka wykonania badań była zgodna z zaleceniami producentów wykorzystanych testów. Stężenia badanych markerów zostały odczytane z krzywej kalibracyjnej wygenerowanej przy pomocy programu komputerowego (FindGraph). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, wykorzystując do tego celu oprogramowanie STATISTICA 8.0 (StatSoft) oraz program StAR (generowanie i analiza krzywych ROC - *Receiver Operating Characteristic*). W celu oceny przydatności diagnostycznej badanych markerów jako metodę odniesienia (referencyjną, tzw. złoty standard) przyjęto, stosowane obecnie w rozpoznawaniu PDS badanie kliniczne samic.

Nie stwierdzono istotnych różnic w odniesieniu do wszystkich badanych parametrów (produkcyjnych, klinicznych oraz laboratoryjnych) pomiędzy lochami pochodzącymi z różnych stad, zakwalifikowanymi do tej samej grupy

doświadczalnej (ZDROWE, PDS lub INNE).

U loch z PDS obserwowano istotnie dłuższy czas trwania porodu, silniej wyrażone zaburzenia apetytu oraz wyższą wewnętrzną ciepłotę ciała w pierwszych dniach po porodzie niż u loch klinicznie zdrowych.

Przeprowadzone badania wykazały znaczną dynamikę zmian stężeń większości badanych BOF i cytokin w okresie okołoporodowym u loch klinicznie zdrowych, oraz loch z patologicznie przebiegającym okresem okołoporodowym. Co istotne z naukowego, ale i praktycznego punktu widzenia, wyniki badań uwidocznily istotne statystycznie różnice pomiędzy profilem odpowiedzi BOF i cytokin u loch zakwalifikowanych do różnych grup badawczych. W przypadku stężeń SAA i Pig-MAP oraz IL-6 stwierdzono występowanie istotnych statystycznie ($p < 0,05$) różnic pomiędzy lochami z PDS a lochami klinicznie zdrowymi oraz lochami z innymi zaburzeniami już w okresie przedporodowym, co stwarza potencjalną możliwość wykorzystania omawianych markerów we wczesnej diagnostyce zaburzeń laktacji u loch. Wyższe surowicze stężenia w/w BOF i cytokin w okresie przedporodowym u loch, u których w późniejszym okresie występuje PDS wskazują, że zmiany o charakterze zapalnym wyprzedzają pojawienie się zaburzeń laktacji w formie klinicznej. Uzyskane wyniki wykazały, że rozpoznanie postawione na podstawie oceny stężeń SAA w 7 dniu przed porodem nie różniłoby się istotnie od tego postawionego na podstawie badania klinicznego, czyli tzw. złotego standardu. Surowiczy amyloid A może być użytecznym diagnostycznie wczesnym markerem zaburzeń laktacji u loch, pozwalającym z dużym prawdopodobieństwem wykryć lochy narażone na wystąpienie zaburzeń laktacji i to już na tydzień przed porodem. Dodatkowo wykazano, istotne różnice w aspekcie stężeń CRP, SAA, Pig-MAP, IL-10 i TNF- α w okresie poporodowym (dzień 3 i/lub 7 po porodzie) pomiędzy lochami klinicznie zdrowymi a lochami z zaburzeniami tego okresu, co czyni te białka potencjalnymi markerami w ocenie stanu zdrowotnego loch w okresie poporodowym.

Summary

Lactation disorders in sows are common and important problem in modern pig production. Due to its multifactorial etiology there are lot of difficulties in early diagnosis of Postpartum Dysgalactia Syndrom (PDS). Today the most common method is clinical examination of sows within first few days after farrowing.

In field conditions veterinarians diagnose PDS usually in day 2 or 3 of lactation or even later. Following diagnosis, the treatment is also implemented late what have big impact on piglets performance. First 3 days are critical for newborn piglets because they are born with very small energetic reserves. Newborn piglets do not have any passive immunity and its immune system is not fully efficient. Thus proper consumption of colostrum and milk is crucial to its later survival in pig herd.

Treatment of PDS is usually efficient and sows are recovering in few days but it is almost impossible to catch up loss associated with insufficient colostrums/milk intake. Identification of early markers of lactation disorders would be very helpful and can provide to new methods of prevention and treatment of PDS.

There are lots of publication that proved utility of acute phase proteins (APP) and cytokines as early markers of different pathological changes in humans and animals. Up till now there are no publications about its diagnostic utility as early markers of lactation disorders in sows. There are no complex data of its kinetic changes in serum of sows in periparturient period, both in physiological and pathological cases. This data are important to decide about possibilities of using these markers to recognize/predict PDS.

In this study we plan to estimate concentration of APP (CRP, Hp, SAA, Pig-Map) and cytokines (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α) in serum of sows with physiological and pathological periparturient period and predict possibility to use these markers in early diagnosis of PDS. This is the first study on this subject in pigs.

The 139 sows from 2 big production units in Poland were examined. Farms were situated in two voivodeship: wielkopolskie and lubuskie.

The criteria for farm were: full production cycle (farrow-finish), efficient data collection system, veterinary supervision and lactation problem occurring.

In those farms in vivo trial on gilt and sows in periparturient period (for this study defined as -28 days prefarrowing to 28 days postfarrowing) were performed. During this trial we did clinical examinations of sows and collect serum samples for laboratory analyses. The clinical examination form, which documented several clinical and production parameters,

were established for each sow.

In connection to the course of the periparturient period sows were divided into 3 groups: HEALTH (n=58); PDS (n=45) and OTHERS (n=36). For laboratory analysis 11 serum samples from each sow were chosen. Commercial ELISA assays were used to analyse concentration of APP and cytokines in serum samples. Assays were performed according to the producer recommendations. Concentrations of all examined markers were read from calibration curves which were generated from the computer software (FindGraph). Results were statistically analysed with STATISTICA 8.0 (StatSoft) and StAR. As a reference diagnostic method („gold standard”) the clinical examination after farrowing done by veterinarian were used.

No statistical difference in all collected parameters between sows from the same group (HEALTH, PDS, OTHERS) among two herds were found. In sows from PDS group the longer farrowing time, higher body temperature, and more appetite disorders than in HEALTH group sows were observed.

In this study the high variation of concentration among acute phase proteins and cytokines in periparturient period in sows (with or without any PDS disorders) were noticed. What is more important from practical and scientific point of view, the results shown statistically important differences between seroprofiles of APP and cytokines among group of sows qualified into 3 groups (HEALTH, PDS, OTHERS)

The statistically important ($p < 0,05$) differences between sows with PDS vs. HEALTH and OTHERS were noticed in concentration of SAA, Pig-MAP and IL-6, what may create possibility to use these markers in early diagnosis of PDS. Higher concentration of above mentioned APP and cytokines before farrowing, in sow which have got lactation problems after farrowing, shows that inflammation-like changes overreach clinical signs. The results of present study shows that diagnosis based on the concentration of SAA 7 days before farrowing do not differ significantly from those based on the clinical examination after farrowing (“gold standard” method). SAA may be useful early marker which can predict with high probability sows at risk for PDS 7 days before farrowing.

Additionally, the results of this study revealed the differences in serum concentration of CRP, SAA, Pig-Map, IL-10 and TNF-alfa in postpartum period (day +3 and/or +7) between sows with physiological and pathological course of periparturient period. Above mentioned results may also create a possibility to use of these proteins as potential markers of health status of sows in postpartum period.