

Występowanie boreliozy z Lyme u koni w wybranych ośrodkach hodowlanych

MAŁGORZATA DZIERŻĘCKA

Katedra Chorób Zakaźnych, Mikrobiologii i Parazytologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW,
ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Dzierżęcka M.

Correlation between the presence of antibodies against *B. burgdorferi* and the clinical signs of Lyme disease

Summary

The goals of the studies undertaken consisted in determining the scale of the *B. burgdorferi* spirochete infection, specifying the degree to which this infection is spreading in selected horse breeding farms with use of serological tests and defining the correlation between antibodies against *B. burgdorferi* and the clinical signs of Lyme disease in horses. The sample size was determined by means of statistical analysis methods for individual horse breeding farms in Central Poland at: Krasne (KR) – 49, Łąck (L) – 21, Walewice (W) – 111, Bogusławice (B) – 17, Kozienice (K) – 61. Next, serological diagnosis methods were used to determine the presence of antibodies against *B. burgdorferi*. The tests used were: Western blot test (Milenia – Blot - Borrelia IgG; MIDBO IgG-Kit 30 Tests; DPC Bierman GmbH), ELISA commercial (Die system-Diagnostica GmbH VIROTECH No. DC 122.00). Three tests required species adaptation and standard fitting because they were initially intended for human sera studies: ELISA standardised – MRL DIAGNOSTICS, product No. EL0400G, and IFA – product No. 75941 of the French company bio-Mérieux. The ELISA test commercially designated for investigating horse sera was also used.

The occurrence of *B. burgdorferi* infection in the population of selected horse breeding farms in Central Poland was discovered by means of serological tests. The share of positive results in ELISA commercial test was, respectively: Walewice – 18.9%, Kozienice – 9.8%, Łąck – 9.5%, Bogusławice – 5.9%, Krasne – 4.1%.

Clinical symptoms were not observed in most spirochete *B. burgdorferi* infections confirmed with serological tests (86.2%). However, it was possible to determine 13.7% cases. Among those were limb disease with unclear aetiology (in four horses), i.e. lameness, the experience of pain and swollen ankle joints or fetlock of rare limbs and laminitis; eye disease of unexplained aetiology (in one horse), i.e. purulent conjunctivitis; and barrenness of unexplained aetiology (in three mares).

Keyword: Lyme disease, horses, *B. burgdorferi*

Pierwsze badania serologiczne koni w kierunku zakażenia *B. burgdorferi* wykonano w USA, w 1982 r. Udział koni reagujących dodatnio wynosił wówczas 24% na terenach endemicznych oraz 1% na pozostałych terenach. Badania te powtórzono cztery lata później i odsetek ten wzrósł odpowiednio do 60% i do 12% (2). Inne badania serologiczne koni przeprowadzone w New Jersey i Pensylwanii wykazały obecność przeciwciał surowicznych przeciwko *B. burgdorferi* u około 10% osobników. W rejonach uznanych za endemiczne (centralna część New Jersey) ponad 60% klaczy i roczniaków, pochodzących z jednej farmy, było serologicznie pozytywnych (10). W Wielkiej Brytanii pierwsze badania serologiczne u koni w kierunku boreliozy przeprowadzono w 1994 r. Stwierdzono następujący udział wyników dodatnich w poszczególnych regionach tego kraju: Wybrzeże Południowe – 33%, Wschodnia Anglia – 36%, Szkocja – 6% (9).

Niewiele jest publikacji odnośnie do wytwarzania oraz okresu utrzymywania się przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* w surowicy krwi u koni. Wiadomo, iż początkowo, podobnie jak u innych gatunków zwierząt powstają IgM (12). U ludzi osiągają najwyższy poziom między 3 a 6 tygodniem od zakażenia (28), u psów utrzymują się co najmniej 9 miesięcy, u koni znacznie krócej, a ich poziom gwałtownie się zmniejsza (3). Istnieją podejrzenia, iż u tego gatunku reakcja IgM jest niezwykle krótkotrwała. Wśród koni pochodzących z terenów endemicznych stwierdzono obecność przeciwciał klasy IgM tylko u 2% osobników (9). Odpowiedź przeciwciał klasy IgG pojawia się później, a wraz z przedłużającym się czasem zakażenia ich poziom narasta. U ludzi przeciwciała tej klasy pojawiają się w surowicy między 6 a 8 tygodniem, a maksymalny ich poziom stwierdzono około 3-6 miesiąca od zakażenia (12, 24). U psów i ludzi przeciwciała

IgG narastają do wyższego poziomu niż u koni (23). Stopniowo następuje także spadek przeciwciał. U ludzi trwa to nawet cztery lata (16) zaś u psów przeciwciała klasy IgG utrzymują się minimum 18 miesięcy po zakażeniu naturalnym, nawet do paru lat (1).

Wśród zaobserwowanych objawów klinicznych choroby Lyme u koni najczęściej występowały: zapalenia stawów (głównie dużych) poprzedzone ich bolesnością, a także wędrującymi bólami mięśniowo-stawowymi (2, 5, 14, 17, 23, 25), drżenie mięśni (27), ogólny niedowład mięśni (przypadek obserwowany u źrebięcia – 23), bóle mięśni (23), zanik mięśni (27), sztywność chodu lub kulawizna (8, 14, 19, 25), obrzęki stawów (10), objawy neurologiczne, towarzyszące zapaleniu mózgu na tle zakażeń krętkami *B. burgdorferi*, jak: skręt głowy, porażenie wiotkie ogona, osowiałość, zmiany zachowania, nadwrażliwość skóry, niezdolność do ruchów, porażenie spastyczne (2, 7, 20, 25), podwyższona temperatura ciała (14, 23, 25) brak apetytu (23, 25), rumień wędrujący – bardzo rzadko pojawiający się u koni (23), chroniczny spadek masy ciała (23, 25, 27), oddzielenie się puszczy kopytowej na skutek zapalenia tworzywa kopytowego (23, 25), osłabienie kondycji (8, 14, 23, 27), wysoka śmiertelność źrebiąt (2, 6, 20), wczesna obumieralność zarodków (18, 30), choroby oczu: zapalenie spojówek, zapalenie tęczęwki, zapalenie całej gałki ocznej, bielmo i wrzód rogówki (4) oraz nawracające zapalenie błony naczyniowej oka (tzw. ślepoty miesięczna – 2, 14), obrzęk warg (11), zmiany skórne w postaci utraty sierści i łuszczenia się skóry w miejscach, gdzie uprzednio zaobserwowano kleszcze tj. głównie na kończynach (11, 20), zapalenie kłębkowe nerek (17), zapalenie pęcherza moczowego (20), zapalenie płuc (14).

Wzrost liczby publikacji o przypadkach boreliozy z Lyme oraz jej znaczenie zarówno u ludzi (29), jak i u zwierząt (2, 9, 10) w różnych częściach świata, stanowiły główną przesłankę podjęcia badań nad występowaniem tej choroby u koni w Polsce. W naszym kraju wstępne badania serologiczne prowadzone były jedynie u bydła i psów (21, 26). Dysertacja ta jest pierwszą w naszym kraju rozprawą naukową dotyczącą rozpoznawania i epidemiologii boreliozy z Lyme u tego gatunku. Celem badań było poznanie sytuacji epizootycznej dotyczącej występowania boreliozy z Lyme w wybranych ośrodkach hodowlanych koni na terenie Polski centralnej oraz określenie zależności między obecnością swoistych przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* a objawami klinicznymi boreliozy z Lyme u koni oraz ich wiekiem.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w pięciu Ośrodkach Hodowlanych Koni (OHK) Polski centralnej: w Krasnem (Kr), w Łącku (Ł), w Walewicach (W), w Bogusławicach (B) i w Kozienicach (K). Liczba koni w poszczególnych OHK wynosiła wg danych Agencji Rynku Rolnego Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi: KR – 110, Ł – 57, W – 251, B –

49 oraz K – 130. Łącznie badaniami objęto 597 koni (liczebność populacji generalnej). Reprezentatywność prób obliczono za pomocą metod statystycznych (15), przy założeniu, że częstość występowania u koni wyników dodatnich może wynosić minimalnie 5% (2, 9, 10) oraz błąd oszacowania nie powinien być większy niż 2%, przy poziomie ufności 95%. W wyniku obliczeń ustalono, że minimalna wielkość próby losowej powinna wynosić 259 koni. Natomiast liczbę koni w poszczególnych OHK ustalono za pomocą tablicy liczb losowych. Wielkość prób pobranych do badań z poszczególnych OHK zgodnie z tą metodą wyniosła: Kr – 49, Ł – 21, W – 111, B – 17, K – 61.

Materiał doświadczalny stanowiły wybrane losowo konie, od których pobrano próbki krwi w celu uzyskania surowic. Jako kontrole dodatnie (+) i ujemne (–) w badaniach posłużyły po pierwsze surowice końskie otrzymane od prof. S. D. Cartera z Uniwersytetu w Liverpool (WB) oraz niektóre surowice pochodzące od wylosowanych koni, które zostały dwukrotnie przebadane przez zespół prof. Cartera, a okazały się dodatnie lub ujemne. W badaniach wykorzystano następujące testy serologiczne: test IFA (product No. 75941 of the French company bio-Mérieux; indirect immunofluorescence assay with whole bacterial cells as antigen), ELISA standaryzowany (MRL DIAGNOSTICS, product No. EL0400G), ELISA komercyjny (Die system-Diagnostica GmbH VIROTECH No. DC 122.00) oraz najbardziej wiarygodny – test Western blot (Milenia – Blot – Borrelia IgG; MIDBO IgG-Kit 30 Tests; DPC Bierman GmbH). Testy: IFA oraz ELISA standaryzowany zaadaptowano i wystandaryzowano do potrzeb badania surowic końskich, ponieważ komercyjnie przeznaczone były do badań surowic ludzkich (13).

Przed pobraniem krwi przeprowadzono wywiad z lekarzem weterynarii sprawującym opiekę nad końmi w danym ośrodku hodowlanym. Pytania dotyczyły objawów klinicznych mogących towarzyszyć chorobie z Lyme w ostatnich miesiącach oraz ewentualnej obecności kleszczy na skórze. Natomiast po wykonaniu testów serologicznych przeprowadzono ponowne, lecz tym razem dokładne badanie kliniczne koni, których surowice dawały wyniki dodatnie w komercyjnym teście ELISA. Okazał się on bowiem najbardziej wiarygodnym testem spośród tych, którymi przebadano wszystkie surowice (13). Badanie kliniczne poprzedzono szczegółowym wywiadem z lekarzem weterynarii, zwracano uwagę na ewentualne kulawizny, obrzęki lub bolesność stawów (głównie skokowego i nadgarstkowego), objawy neurologiczne, ślepotę miesięczną, spadek kondycji, brak apetytu, ronienia w przypadku klaczy, czy też jakiegokolwiek inne spostrzeżenia dotyczące stanu zdrowia danego konia. Badanie wstępne obejmowało określenie liczby oddechów, częstości i charakteru tętna, temperatury ciała, stanu błon śluzowych oraz stanu skóry, ze szczególnym zwróceniem uwagi na zmiany zlokalizowane na kończynach. U koni pokąsanych przez kleszczy mogły bowiem wystąpić zmiany w postaci utraty sierści lub łuszczenia się skóry. Następnie oceniano kondycję i zachowanie się konia, sposób poruszania oraz reagowanie na otoczenie. W badaniu klinicznym szczególną uwagę zwracano na zmiany w obrębie dużych stawów (skokowy i nadgarstkowy) oraz na stan kopyt. Przeprowadzano również badanie oczu

z uwzględnieniem stanów zapalnych spojówek i ewentualnych zmian na rogówce (bielmo, wrzód) i tęczęwce.

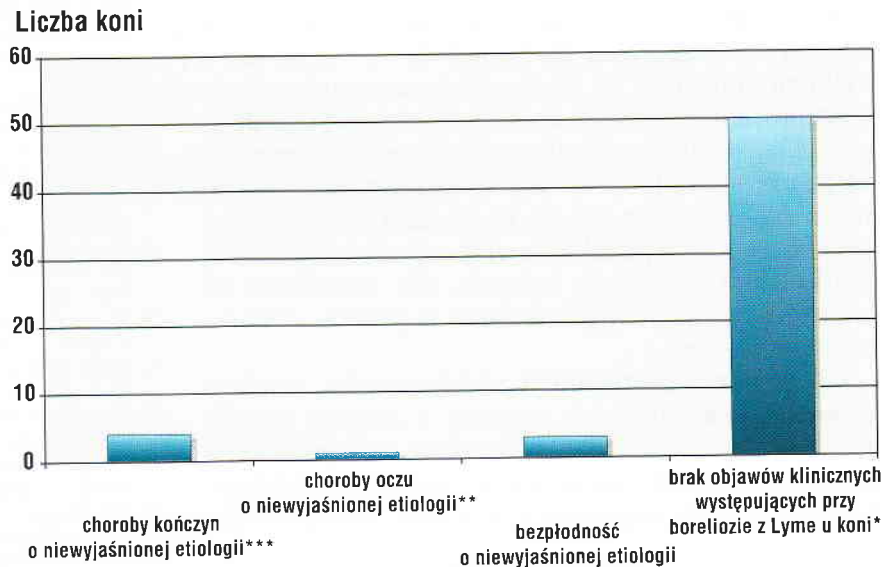
Wyniki i omówienie

Na podstawie badań serologicznych stwierdzono przeciwciała przeciwko *B. burgdorferi* w surowicach koni w wybranych ośrodkach hodowlanych mieszczące się w przedziale 4,1-18,9% surowic dodatnich, zgodnie z wynikami testu ELISA komercyjnego. Odsetek surowic dodatnich podano zgodnie z wynikami testu komercyjnego ELISA, który okazał się najbardziej wiarygodnym testem spośród tych którymi przebadano wszystkie surowice (13). Zestawienie objawów klinicznych u koni, których surowice zostały uznane za dodatnie lub wątpliwe w teście ELISA komerc. przedstawiono na ryc. 1. Najwyższy odsetek wśród nich stanowiły konie klinicznie zdrowe – 86,2%. Brak objawów klinicznych stwierdzono badaniem klinicznym oraz w toku wywiadu. Pytano o przebyte schorzenia mogące mieć związek z boreliozą. W grupie tej znajdowały się także konie, które nie były dostępne do powtórnego badania, gdyż zostały sprzedane lub poddane ubojowi (16 sztuk). Jednak z wywiadu można było domniemywać, że w okresie przebywania w ośrodku hodowlanym nie wykazywały objawów nasuwających podejrzenie boreliozy z Lyme. Przyczyną zgładzenia była na przykład starość (jeden koń), krwotoki powysiłkowe (u jednego konia). Jedna klacz padła z powodu ciąży bliźniaczej.

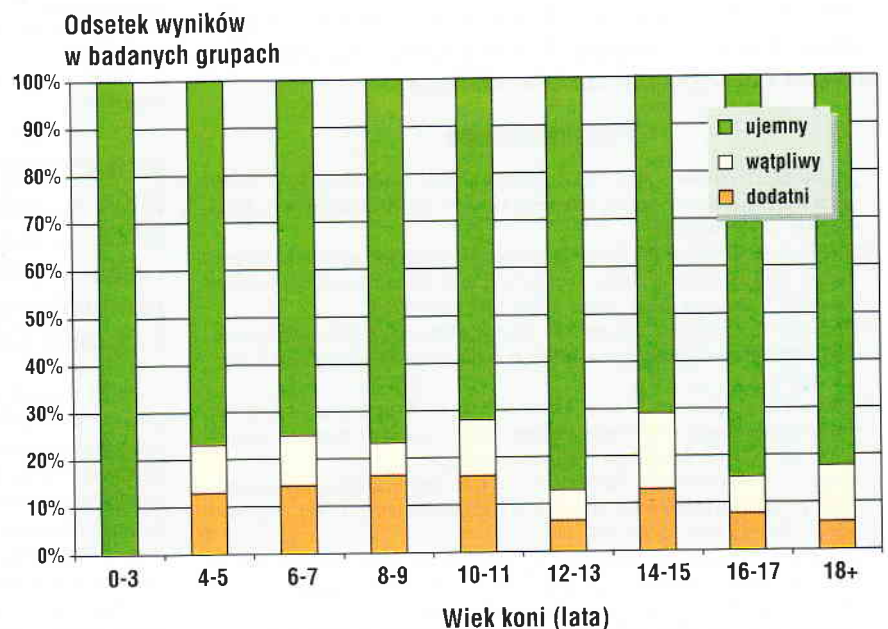
U 13,7% koni stwierdzono schorzenia kończyn o niewyjaśnionej etiologii (4 konie), manifestujące się przewlekłą kulawizną, bolesnością i obrzękami stawów skokowych u czteroletniej klaczy pochodzącej z OHK w Walewicach, obrzękami stawów pięcinowych obu kończyn tylnych u dwunastoletniej klaczy pochodzącej także z tego ośrodka hodowlanego, ochwatem u siedmioletniej klaczy rasy konik polski z OHK w Krasnem. Stwierdzono przewlekłe obrzęki stawów skokowych i pięcinowych kończyn tylnych u czternastoletniej klaczy pełnej krwi angielskiej z OHK w Kozienicach. U trzynastoletniej klaczy półkrewi pochodzącej z OHK w Walewicach stwierdzono ropne zapalenie spojówki prawego oka o nieznannej etiologii. U trzech klaczy pełnej krwi angielskiej, w wieku 4, 7, 13 lat pochodzących z OHK w Łącku, stwierdzono bezpłodność także o niewyjaśnionej

etiologii. Zwierzęta te pomimo leczenia nie udało się zażrebić przez parę sezonów.

Wyniki badań własnych stanowią potwierdzenie danych piśmiennictwa. Już na przełomie lat osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych, kiedy rozpoczęto pierwsze badania serologiczne koni, stwierdzono, że u tego gatunku większość zakażeń *B. burgdorferi* przebiega bezobjawowo (2, 9). Jednocześnie wykazano, że ten brak związku pomiędzy występowaniem objawów boreliozy z Lyme a wynikami testów jest charakterystyczny dla koni, gdyż u ludzi i psów zwykle istnieje



Ryc. 1. Rozkład stwierdzonych objawów klinicznych u koni serologicznie dodatnich i wątpliwych. Objasnienia: ***choroby kończyn o niewyjaśnionej etiologii: kulawizny, bolesność i opuchlizna stawów skokowych, opuchlizny stawów pięcinowych tylnych kończyn, ochwat, opuchlizny obu kończyn tylnych w okolicach stawów skokowych i pięcinowych; **choroby oczu o niewyjaśnionej etiologii: ropne zapalenie spojówek, bielmo; *brak objawów klinicznych. Do tej grupy należały konie, które przy obydwu badaniach nie wykazywały żadnych objawów klinicznych lub, wykazywały objawy kliniczne nie związane z boreliozą z Lyme tj.: krwotoki powysiłkowe, padnięcia z powodu ciąży bliźniaczej.



Ryc. 2. Wyniki testu komercyjnego ELISA w zależności od wieku koni

taka zależność. Obecności przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* u tych dwóch gatunków niejednokrotnie towarzyszą objawy kliniczne. Wprawdzie opisano u koni objawy kliniczne uznane za charakterystyczne dla zakażenia *B. burgdorferi*, lecz wystąpiły one u nielicznego odsetka badanych zwierząt, pochodzących z terenów endemicznego występowania choroby z Lyme u ludzi (2). Wyniki niniejszych badań własnych, wykazują, że podobnie jak w Wielkiej Brytanii oraz Europie kontynentalnej, postać kliniczna boreliozy z Lyme u koni w wybranych ośrodkach hodowlanych Polski centralnej nie jest tak powszechna jak w USA (22).

Analizowano także zależność między obecnością przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi* w surowicy a wiekiem koni (ryc. 2). Zaobserwowano tendencję do występowania wyników dodatnich u koni z przedziału 4-15 lat, czyli u koni będących w intensywnym okresie użytkowania (13). Świadczy to najprawdopodobniej o zwiększonym ryzyku na kontakt z kleszczami, gdyż konie w tym przedziale wiekowym są najczęściej użytkowane w rajdach leśnych, czy zawodach na otwartym terenie, niejednokrotnie w pobliżu terenów zalesionych i łąk.

Z dostępnego piśmiennictwa także wynika, iż wśród populacji koni starszych częściej występują wyniki dodatnie. Natomiast nie stwierdzono zależności pomiędzy miesiącem pobrania krwi (czerwiec, październik) a odsetkiem uzyskanych wyników dodatnich (2).

Podsumowanie

Pomimo wysokiego odsetka wyników dodatnich, borelioza z Lyme nie stanowi u koni w Polsce, podobnie jak w krajach europejskich, klinicznego problemu. W większości przypadków stanowiących 86,2% zakażeń *B. burgdorferi* potwierdzonych testami serologicznymi, u koni w wybranych ośrodkach hodowlanych nie stwierdzono objawów klinicznych. Oznacza to, że badania laboratoryjne w kierunku boreliozy powinny być prowadzone jedynie w przypadkach wystąpienia objawów mogących towarzyszyć tej chorobie, których etiologia nie została ustalona.

Piśmiennictwo

1. Appel M. J., Jacobson R. H.: CVT updates Canine Lyme disease. W: Bonagura J. D., red.: Kirk's current veterinary therapy XII, Saunders Comp. Philadelphia 1995; 303-309.
2. Bernard W. V., Cohen D., Bosler E., Zamos D.: Serologic survey for Borrelia burgdorferi antibody in horses referred to a mid-Atlantic veterinary teaching hospital. J. Am. Vet. Med. Assoc 1990; 196: 1255-1258.
3. Browing S., Carter S. D., Barnes A., May C., Bennett D. J.: Lameness associated with Borrelia burgdorferi infection in the horse. The Vet. Record, 1993; 12: 610-611.
4. Burgess E. C., Amundson T. E., Davis J. P., et al.: Experimental inoculation of Peromyscus spp with Borrelia burgdorferi evidence of contact transmission. Am. J. Trop. Med. Hyg. 1986a; 35: 355-359.
5. Burgess E. C., Gillette D., Pickett J. P.: Arthritis and panuveitis as manifestations of Borrelia burgdorferi infection in a wisconsin pony. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1986b; 189: 1340-1342.
6. Burgess E. C., Gendron-Fitzpatrick A., Mathison M.: Foal mortality associated with natural infection of pregnant mares with Borrelia burgdorferi. W: Proceedings, 5th Int. Conf. Equine Infect. Dis; 1987c.
7. Burgess E. C., Mathison M. Dec.: Encephalitis associated with Borrelia burgdorferi infection in a horse. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1987d; 11: 1457.

8. Burgess E. C.: Borrelia burgdorferi infection in Wisconsin horses and cows. An. N. Y. Acad. Sci. 1988; 539: 235-243.
9. Carter S. D., May C., Barnes A., Bennett D.: Borrelia burgdorferi infection in U. K. horses. Equine Vet. J. 1994; 23 (3): 187-190.
10. Cohen D., Bosler E. M., Bernard W., Meirs D., Eisner R., Schulze T. L.: Epidemiologic studies of Lyme disease in horses and their public health significance. Ann N. Y. Acad. 1988.
11. Cohen N. D., Cohen D.: Borreliosis in Horses: A comparative Review. The Compendium. Equine, 1990; 12 (10): 1449-1453.
12. Craft J. E., Fisher D. K., Shimamoto G. T., Steere A. C.: Antigens of Borrelia burgdorferi Recognized during Lyme Disease. J. Clin. Invest. October 1989; 78 (10): 934-939.
13. Dzierżęcka M.: Występowanie boreliozy z Lyme u koni w wybranych ośrodkach hodowlanych Polski centralnej. Praca doktorska. Warszawa 2001; Wyd. Med. Wet. SGGW Warszawa.
14. Gerhard H., Wollanke B.: Antibody titers against Borrelia in horses in serum and in eyes and occurrence of equine recurrent uveitis. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. Aug. 1996; 109 (8): 273-278.
15. Greń J.: Statystyka matematyczna. Modele i zadania. PWN, Warszawa 1978; 1-363.
16. Kmety E.: Dynamics of antibodies in Borrelia burgdorferi sensu lato infections. Bratisl. Lek. Listy, 2000; 101 (1): 5-7.
17. Madigan J. E., Teitler J.: Borrelia burgdorferi borreliosis. Jour. Am. Vet. Med. Ass. 1988; 7: 892-896.
18. Madigan J. E.: Lyme Disease (Lyme Borreliosis) in horses. Vet. Clinic. of North Am.: Equine Practice, 1993; 9 (2): 429-434.
19. Magnarelli L. A., Anderson J. F.: Early detection and persistence of antibodies to Borrelia burgdorferi in persons with Lyme disease. Zbl. Bakt. Hyg. 1986; 263: 392.
20. Magnarelli L. A., Anderson J. F., Shaw E., Post J. E., Palka F. C.: Borreliosis in equids in northeastern United States. J. Vet. Res. 1988; 49: 359-362.
21. Mizak B., Król J.: Diagnostyka laboratoryjna zakażeń Borrelia burgdorferi. Medycyna Wet. 1999, 55(10): 646-650.
22. Nuttall P.: Ecology of Lyme borreliosis in the United Kingdom. Pro. Europ. Symp on Lyme borreliosis, London 1993.
23. Parker J. L., White K. K.: Lyme borreliosis in cattle and horses a review of the literature. Cornell Vet. 1992; 82(3): 253-274.
24. Ponurkiewicz I., Sienkiewicz P.: Ocena czułości i swoistości oraz dodatniej wartości Przewidywalnej testu VIDAS Lyme IgG i IgM (LYT) firmy bio-Merieux. 1998; <http://www.spzow.hanowka.pl/diagno/borelio.hum>
25. Popovic N., Djuricic B., Valcic M.: The importance of Lyme borreliosis in veterinary medicine. Glas. Srp. Acad. Nauka 1993; 43: 277-285.
26. Stańczak J.: Zagrożenie boreliozą z Lyme zwierząt dziko żyjących i domowych. Konferencja „Choroby zakaźne przenoszone przez kleszcze” 1996; SGGW, Warszawa.
27. Step D. L., Cummings J. F., de Lahunta A., Valentine B. A., Summers B. A., Rowland P. H., Mohammed H. O., Eckerlin R. H., Rebhun W. C.: Motor neuron degeneration in a horse. J. Am. Vet. Med. Assoc. 1993; 202(1): 86-88.
28. Tylewska-Wierzbawska S.: Borelioza z Lyme. Nowa Medycyna 1995, 1: 3-4.
29. Tylewska-Wierzbawska S.: Borelioza z Lyme – wzrastający problem zdrowotny. Przegl. Epid. 1997; 51: 425-429.
30. Wiśniewski E., Dąbrowska J.: Wczesna obumieralność zarodków, ronienia i przedwczesne porody u klaczy. Życie wet. 1996; 2: 41-46.

Adres autora: dr Małgorzata Dzierżęcka, ul. Podbiłpięty 31 m. 24, 02-732 Warszawa

BOUCHER S., GRACIA E., VILLA A., FERNANDEZ A., NOUAÏLLE L., BRIFFAUD M. A., ALBIZU I., BASELGA R.: Patogeny układu rozrodczego królików fermowych. (Pathogens of the reproductive tract of farm rabbits). Vet. Rec. 149, 677-678, 2001 (22)

W 32 fermach królików, w których występowały ronienia, chore zwierzęta zabijano, wykonywano sekcję i badanie bakteriologiczne tuż po uboju. Wyosobnione bakterie identyfikowano w systemie API 20E i testami biochemicznymi wg Cartera i Cole. Rogi maciczne poddano badaniu immunocytochemicznemu stosując przeciwciała poliklonalne dla *Mycoplasma pulmonis* pg34 i przeciwciała monoklonalne dla *Chlamydia trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci*, *Leptospira*, *Toxoplasma gondii* i wirusa RHD. Najważniejszą przyczyną zaburzeń w reprodukcji były infekcje wywołane przez *Pasteurella multocida* i *Mycoplasma*. Mniejszą rolę w etiologii chorób odgrywała *Leptospira interrogans*, *Staphylococcus aureus*, *Chlamydia*, *Escherichia coli*, wirus RHD i *Toxoplasma gondii*.