

Slutrapport

Ny ultraljudsmetod för utvärdering av knäleder hos nötkreatur fokuserat på tjurar av kötttras

Projektnummer: S-17-24-786

Projektperiod: 17-09-01 – 18-08-31

Huvudsökande:

Kerstin Hansson, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper, bildiagnostik. kerstin.hansson@slu.se

Medsökande:

Ylva Persson, Statens veterinärmedicinska anstalt/Växa Sverige.

Renee Båge, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för kliniska vetenskaper, reproduktion.

Stina Ekman, Sveriges Lantbruksuniversitet, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, patologi.

Del 1: Utförlig sammanfattning

In beef bulls, the most common cause of lameness is probably osteochondrosis (OC) and osteoarthritis. Osteochondrosis affects the immature skeleton of many species, including cattle. Heredity, gender, growth, weight, trauma, nutritional imbalance and anatomical conformation have been proposed as aetiological factors. The disease may be present without causing any clinical symptoms or only a mild progressive lameness, partly because bilateral lesions are common in bulls. Therefore, lameness can be difficult to observe under field conditions.

The aim of the study was to investigate the possibility of using a basic portable ultrasound equipment in stifle examinations of bulls as a tool for evaluation of orthopaedic soundness in order to potentially add the examination protocol to the bull breeding soundness evaluation in field conditions.

The hypothesis is that ultrasound will be possible to use in examination of the lateral trochlear ridge of distal femur, a predilection site for osteochondrosis in bovine stifle joints.

Material and methods

The study was performed in three steps, firstly an *in vitro* step on slaughterhouse leg material and secondly two *in vivo* steps: First testing of the method under controlled

Projekt har fått finansiering genom:

conditions on cows at the teaching clinic of the Department of Clinical Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), and finally test the method under field conditions on beef bulls of various ages at two commercial herds.

In vitro

In total three stifles were used, two from a 10-month-old bull and one from a seven-year-old bull. Four ultrasound machines with transducers of variable frequencies from high to low resolution was used including one portable machine commonly used in mobile large animal practice. A protocol for examination of the stifle focusing on the lateral trochlear ridge based on anatomical landmarks was suggested and tested.

In vivo

First part

Ultrasound examination of the stifles (left and right) on two sedated cows recruited for student teaching at SLU was performed. The cows were examined according to the *in vitro* protocol.

Second part

Ultrasound examination of the stifles (left and right) on eight Hereford, four Simmental and one Charolais bull in an age range of 14,5 – 60 months were performed. The bulls were successfully examined according to the final examination protocol based on the initial *in vitro* and subsequent *in vivo* examination protocol finalised after examination of cows described above.

Benefits for the industry and profitability potential

Ultrasound included in the Bull Breeding Soundness Evaluation can be used for:

- Screening of young bulls before they are delivered for breeding purposes, e.g. All bulls at the testing station prior to the livestock auction.
- Screening of older beef sires before each breeding season.
- Diagnostic purposes in bulls with reproductive failure and/or lameness.

Early diagnosis will make it possible to exclude bulls from the breeding scheme/season on beforehand. This is of great economic importance for the beef industry since chances of replacing the bull will increase and risks of a poor pregnancy result will decrease. But also important from an animal welfare perspective since bulls with joint lesions should not be forced to perform under one or more breeding seasons.

Diagnosis of joint disorders will facilitate treatment and prognosis of lame bulls or bulls with reproductive failure. This is important from an economic but also animal welfare point of view. Moreover, it will facilitate culling and insurance decisions.

Del 2: Rapporten

Inledning

Sedan år 1974 har antalet mjölkkor i Sverige halverats från 688 000 till 331 000 år 2016. Under samma tid har antalet dikor nästan tredubblats från 67 000 dikor år 1976 till 194 000 år 2016. (Jordbruksverket 2016a) I dikobesättningen spelar tjurens fertilitet en större roll än den enskilda kons då det kan uppstå situationer där en hel grupp med kor inte blivit dräktiga på grund av att tjuren inte har fungerat. Persson *et al.* (2007) visade att tjurar med nedsatt fertilitet i högre grad hade ledförändringar än tjurar med normal fertilitet. Hos köttrastjurar är osteokondros (OC) och osteoartrit de vanligaste orsakerna till ledproblem. Osteokondros är en förändring som uppkommer i tillväxtbrosk hos både djur och människor och definieras som ”en fokal störning i den endokondrala benbildningen”. (Yttrhus *et al.* 2007) Flera predilektionsställen för OC finns beskrivna hos nöt men förändringar på laterala troklea (*trochlea lateralis femoris*) i knäleden beskrivs som den vanligaste. (Reiland *et al.* 1978; Weisbrode *et al.* 1982; Trostle *et al.* 1997; Persson *et al.* 2007)

Det är svårt att diagnosticera OC i knäleden hos levande nötkreatur då röntgen inte är optimalt och oftast inte genomförbart i fält. Förändringarna är ofta bilaterala vilket gör att tjurarna inte alltid är halta. Dessutom ses inte alltid en ökad ledfylldnad vilket ytterligare försvårar diagnostiken. (Trostle *et al.* 1998)

Syftet med den här studie var att utveckla ett ultraljudsprotokoll för utvärdering av knäleden hos nöt fokuserat på laterala troklea. Målet är att metoden ska gå att använda i fält och att undersökningen ska kunna göras med fältmässig utrustning, det vill säga en bärbar ultraljudsapparat och kunna utgöra en del i det redan existerande hälsoundersökningsprotokollet för avelstjurar.

Material och metoder

Djurmaterial

In vitro

I *in vitro*-steget användes vänster bakben från en 7 år gammal highland cattletjur samt vänster och höger bakben från en 10 månader gammal SRB-tjur. För samtliga ben i *in vitro*-steget rakades huden runt knälederna, området tvättades med vatten och ultraljudsgel applicerades på huden varefter knälederna undersöktes med ultraljud.

In vivo - undersökning av kor

Vänster och höger knäled på två undervisningskor av rasen SRB vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) undersöktes med ultraljud. Den ena kon (nummer 1454) gavs lugnande medel med en kombination av 0,5 ml xylazin 20 mg/ml (Xysol vet., VM Pharma), 0,6 ml butorfanol 10 mg/ml (Butomidol vet., Salfarm Scandinavia) och 0,5 ml

ketamin 50 mg/ml (Ketaminol vet., Intervet). Den andra kon (nummer 197) sederades med 1,2 ml xylazin 20 mg/ml (Xysol vet, VM Pharma). Korna undersöktes stående i verkstol. Området runt vänster och höger knäled rakades och tvättades med vatten varefter ultraljudsgel applicerades på huden. Inget försök gjordes att fixera kornas ben i specifika ställningar eftersom korna naturligt intog olika benpositioner.

In vivo - undersökning av köttrastjurar

Vänster och höger knäled undersöktes enligt samma metod som beskrivs för undersökning av SRB korna med den skillnaden att köttrastjurarna inte erhöll något lugnande medel. Tjurar på två olika besättningar undersöktes; Grellsbo Hereford och Vita Fall. På Grellsbo Hereford undersöktes åtta tjurar, 14,5 till 23 månader gamla av rasen Hereford. På Vita Fall undersöktes fyra tjurar i åldrarna två till fem år samt en nio år gammal tjur, samtliga av rasen Simmental utom en 2 årig tjur av rasen Charolais.

Ultraljudsundersökning

Ultraljudsutrustningar

De tre kadaverbenen undersöktes med fyra olika ultraljudsutrustningar, två lämpliga att använda ute i fält samt två utrustningar som huvudsakligen används på klinik eller djursjukhus.

De utrustningar som användes var;

- imaGo ECM, bärbar utrustning med linjär rektalgivare och sektorgivare, mätnoggrannhet 1 mm, frekvens 5 - 10 MHz.
- Logiq E9 GE Healthcare, linjär- och sektorgivare, mätnoggrannhet 0,01 mm. Frekvens linjärgivare 4,5 - 15 MHz, sektorgivare 4 - 12 MHz.
- MyLab30VET Esaote, semi-bärbar utrustning med linjär rektalgivare och mikrokonvex givare, mätnoggrannhet 0,1 mm. Frekvens rektalgivare 5 - 10 MHz, mikrokonvex givare 3 - 9 MHz.
- iScan Draminski, bärbar utrustning med linjär rektalgivare, mätnoggrannhet 1 mm. Frekvens 4 - 9 MHz.

Korna undersöktes med MyLab30VET Esaote. Dessutom undersöktes ett bakben på en ko med iScan Draminski. Köttrastjurarna undersöktes enbart med iScan Draminski.

Teknisk undersökningsmetodik

De tekniska parametrarna justerades så att bästa möjliga bildkvalitet kunde uppnås. Multipla svep med ultraljudsgivaren gjordes för att hitta en optimal position och bra kontakt med huden. Huvudsökande (KH) och en student utförde ultraljudsundersökningar på samtliga *in vitro*-preparat och på de levande korna. KH utförde samtliga undersökningar på köttrastjurarna. Alla undersökningar där mätvärden

registrerades utfördes av KH. Stillbilder togs på de strukturer som undersöktes och brosktjockleken på *trochlea femoris* mättes på laterala och mediala trokleaåsen samt i området mellan dessa i de fall detta kunde ses. Undersökningarna gjordes i både longitudinellt och transversellt plan, mätningarna i longitudinalplan på trokleas laterala och mediala ås togs 1 cm från patellas spets. Laterala trokleaåsen har i transversalplan ett karakteristiskt utseende i form av en topp där brosket ses som en anechoisk (ekofri, svart) struktur och det subchondrala benet är hyperechoiskt (vitt), longitudinellt är utseendet mer rundat i formen. De transversella måtten togs genom att givaren roterades 90 grader över området för den longitudinella mätpunkten och brosket mättes vid denna punkt i transversellt plan.

Preparatundersökning

Obduktion av de tre slaktbenen utfördes dagen efter eller samma dag som ultraljudsundersökningen. Knäleden (*articulatio femorotibialis*) och patellarleden (*articulatio femoropatellaris*) öppnades och bedömdes okulärt. Histologisnitt togs från *trochlea femoris* genom att benet sågades i transversalt och longitudinellt plan så att transversella snitt från laterala och mediala trokleaåsen och ett longitudinellt från vardera laterala och mediala trochlea femoris erhöles. Brosktjockleken på snitten mättes med ett skjutmått med en mätnoggrannhet på 0,1 mm för att undersöka om tjockleken överensstämde med ultraljudsmätningarna. De utsågade bitarna fixerades i 10 % buffrad formalin och urkalkades i myrsyra efter att de sågats i mindre bitar. De mindre tillskurna bitarna paraffininbäddades och snittades i 4 µm tjocka snitt samt färgades med haematoxylin & eosin (H&E). Därefter undersöktes de ljusmikroskopiskt.

Resultat

Ultraljudsundersökning – *in vitro*

De anatomiska strukturer som kunde avbildas var patella, dess raka band (laterala, mellersta och mediala) samt laterala och mediala åsen på *trochlea femoris*. Området mellan dessa kunde ses på slaktbenen från den 10 månader gamla tjuren och på de två levande korna men inte på den 7 år gamla tjuren. Ledbrosket sågs som en anekoisk (svart) struktur. Hos den 10 månader gamla tjuren var brosket som förväntat tjockare än hos de vuxna individerna och i brosket sågs multipla små ekogena områden vilka tolkades som vaskulariseringar i tillväxtbrosket.

För att lokalisera laterala trokleaåsen identifierades patella som först palperades ut varefter givaren placerades över patella i transversalplan. Givaren fördes sedan ner längs patella och det mellersta raka bandet för att sedan föras lateralt och vinklas efter anatomin, laterala trokleaåsen kunde då ses på skärmen. Genom att föra givaren i medial riktning kunde området mellan laterala och mediala trokleaåsarna identifieras.

För att avbilda laterala trokleaåsen i longitudinellt plan roterades givaren från transversalplan till longitudinellt plan medan givaren hölls kvar över laterala troklea. Ett annat alternativt var att palpera ut patellas raka band och placera givaren mellan det mellersta och laterala raka bandet, precis distalt om patellaspetsen. Laterala troklea i longitudinellt plan kunde då ses på skärmen. Testprotokollets praktiska utförande inkluderande bilder finns som bilaga i det till slutrapporten bilagda examensarbetet av Lotta Häggblom 2018 (se bifogad länk).

Mätvärden från vänster bakben på den 10 månader gamla tjuren är angivna i tabell 1. För motsvarande mätvärden från höger bakben refereras till examensarbete av L. Häggblom. Värden från den 7 år gamla tjuren är angivna i tabell 2. Även iScan Draminski och imaGo ECM provades och de strukturer som kunde ses med MyLab30VET och Logiq E9 kunde också ses med dessa bärbara apparater. Eftersom mätnoggrannheten hos de bärbara apparaterna är 1 mm så blev mätvärdena endast i heltal av mm. Även imaGo ECM med linjärgivare användes för att undersöka knälederna hos den 10 månader gamla tjuren.

		Laterala troklea	Laterala troklea	Mediala troklea	Mediala troklea	Området mellan laterala och mediala troklea
Apparat	Givare	Longit.	Transv.	Longit.	Transv.	Transv.
MyLab30VET	mikrokonvex	11,0	10,5	5,6	6,0	2,9
	rektal	11,9	11,1	x	x	x
iScan Draminski	rektal	11,0	10,0	x	x	x
Logiq E9 GE Healthcare	sektor	9,9	10,9	3,3	5,2	3,1
Skjutmått		x	8,8	x	4,8	4,8
Linjal		10	7	10	4	x

Tabell 1. Vänster bakben; *Broskets tjocklek 1 cm distalt om patellaspetsen hos en 10 månader gammal SRB tjur. Mätvärden är angivna i millimeter. Mätning med skjutmått och linjal gjordes på snitt av troklea efter obduktion. Longit=longitudinellt, Transv=transversellt, x = ej möjligt att mäta.*

		Laterala troklea	Laterala troklea	Mediala troklea	Mediala troklea
Apparat	Givare	Longitudinellt	Transversellt	Longitudinellt	Transversellt
MyLab30VET	mikrokonvex	1,3	NA	1,2	NA
	rektal	1,2	1,2	1,1	1,1
Logiq E9 GE Healthcare	sektor	1,1	1,4	1,2	1,2
	linjär	1,1	1,3	1,2	1,2
Skjutmått		x	2,9	x	2,0
Mikroskop		0,7	1,1	0,6	0,8

Tabell 2. Broskets tjocklek 1 cm distalt om patellaspetsen hos en 7 år gammal highland cattletjur. Mätvärden är angivna i millimeter. Mätning med skjutmått gjordes på snitt av troklea efter obduktion. Mätning av brosket från histologiska snitt gjordes i 40x förstoring i mikroskop med en noggrannhet på 0,1mm. x = ej utfört.

Patologianatomiskt utseende

Det makroskopiska utseendet vid obduktion stämde väl överens med ultraljudsutseendet och det histologiska utseendet var normalt på samtliga snitt. Hos den 10 månader gamla tjuren sågs vaskulariserat tillväxtbrosk.

Ultraljudsundersökning av kor – *in vivo*

Ko nummer 197 hade en varierande brosktjocklek på laterala troklea och det subkondrala benet hade en ojämn kontur. Medialsidan av laterala troklea och lateralsidan av mediala troklea hade ett tjockare brosk, det vill säga brosket var tjockare mellan de två trokleaåsarna. På grund av mätnoggrannheten på 1 mm på Draminski iScan blev alla värden 1 mm och apparaten användes inte för undersökning av mer än ett ben förutom för området mellan troklea på ko nr 197 där mätvärdet blev 2 mm.

Ultraljudsundersökning av tjurar – *in vivo*

Laterala troklea gick att identifiera på samtliga undersökta tjurar och uppvisade den karakteristiska formen av en toppformig struktur med anechoiskt (svart) brosk samt underliggande hyperechoiskt (vitt) subchondralt ben.

Diskussion

Fokus i den här studien låg på laterala troklea och på att ta fram ett undersökningsprotokoll som är möjligt att använda i fält med bärbara ultraljudsapparater och linjärgivare. Valet att använda två kor av mjölkkras för undersökning av knäleden hos levande nötkreatur istället för att använda kötttrastjurar

gjordes för att korna kunde sederas samt att utrustning och personal fanns lätt tillgängligt på SLU. De ultraljudsapparater som användes i studie valdes för att få ett spann från apparater för klinikbruk med hög detaljupplösning och noggrannhet och flera givare till fältmässig bärbar apparat med lägre upplösning och noggrannhet. De apparater som valdes fanns tillgängliga på SLU och inkluderades därför i studien.

Slaktbenen obducerades och undersöktes makro- och mikroskopiskt för att säkerställa att inga patologiska förändringar fanns och för att se om strukturerna och brosktjockleken korrelerade med ultraljudsfynden. De värden som erhöles vid mätning av brosktjocklek på de utsågade preparaten från troklea med skjutmått skiljde sig i vissa fall från de värden som erhöles med ultraljud. Detta kan förklaras av att mätningen med ultraljud gjordes 1 cm från patellaspetsen medan mätningen med skjutmått inte kunde utföras exakt på denna punkt eftersom preparaten inte kunde sågas exakt på samma ställe då patellas position inte går att bestämma exakt efter att leden är öppnad. En annan orsak är att unga djur normalt sätt har ett tjockt tillväxtbrosk vilket även varierar i tjocklek.

Mätvärdena i denna studie skiljer sig i vissa fall vid mätning av samma struktur med olika apparater och givare. Detta kan förklaras med att mätpunkten 1 cm från patellaspetsen inte är exakt och viss variation i mätpunkten kan ha förekommit. På Logiq E9 är dessutom upplösningen så hög att det subkondrala benets ojämnheter syntes tydligt framför allt hos den unga tjuren och att välja mätpunkter blev då svårare. Hos den 10 månader gamla tjuren var det även svårt att få ett mätvärde på laterala och mediala troklea i rät vinkel mot det subkondrala benet och brosket då brosket var mycket tjockare in mot området mellan trokleaåsarna än på lateral- och medialsidan. Detta kan ha bidragit till skillnaderna i mätvärdena som uppmättes eftersom mätning av en kurverad struktur riskerar att variera. I *in vivo*-steget vid undersökning och mätning av brosktjocklek hos korna fick korna röra sina ben och de intog naturligt olika positioner, mätvärdena kan därför skilja sig eftersom patellas position blir olika beroende på hur rak eller böjd knäleden är och därmed blir mätpositionen olika.

Mätvärden gjorda med Logiq E9 GE Healthcare apparaten kan anses som mest korrekta då denna apparat har högst upplösning och en noggrannhet på 0,01 mm. Rektalgivare med bärbar utrustning för användningen i fält visade sig ändå fungera bra trots att noggrannheten bara var 1 mm. De ledförändringar som Persson *et al.* (2007) sett har varit så stora att dessa troligtvis skulle fångas upp av en apparat med en noggrannhet på 1 mm men vidare studier på detta behövs.

Slutsatser

Den viktigaste slutsatsen är att det ultraljudsprotokoll som tagits fram med fokus på femurs laterala troklea har fungerat bra både vid undersökning av slaktben, på levande kor och på kötttrastjurar. Metodiken har upplevts som enkel att upprepa och bör gå att lära ut på ett relativt enkelt sätt till veterinärer ute i fält vilket möjliggör att den har potential att utgöra en framtida screeningmetod. Undersökning av tjurar med misstänkta ledförändringar i samband med slakt för att korrelera patologiska utseenden med utseendet på ultraljud är en naturlig fortsättning på denna pilotstudie.

Nytta för näringen och rekommendationer

Ultraljudsprotokollet skulle med fördel kunna användas i framtiden som ett tillägg vid fruktsamhetsundersökning innan betäckningssäsongen på tjurar som ska betäcka naturligt. Även på provningsstationer för tjurar, både kött- och mjölkkras, kan metoden användas för att hitta tjurar med signifikanta ledförändringar för att utesluta dessa ur aveln och så småningom få en mer hållbar djurproduktion både ur ekonomiskt och djurskyddsperspektiv. Vidare kan det framtagna ultraljudsprotokollet öppna nya möjligheter att undersöka tjurar i fält med misstanke om hälta lokaliserad till knäleden. Fler studier behövs dock i större skala med fler individer och flera olika raser för att fastställa referensparametrar för tjurar i olika åldrar.

Referenser

- Jordbruksverket, Ann-Marie Karlsson (2016a). *Förändring av antal kor samt av antal tackor och baggar åren 1974-2016*, <https://jordbruketisiffror.wordpress.com/2017/08/13/forandring-av-anta-kor-samt-tackor-och-baggar-aren-1974-2016/> [2017-11-04]
- Persson, Y., Soderquist, L. & Ekman, S. (2007). Joint disorder; a contributory cause to reproductive failure in beef bulls? *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49:31.
- Ytrehus, B., Carlson, C.S. & Ekman, S. (2007). Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. *Veterinary Pathology*, 44: 429-448.
- Reiland, S., Stromberg, B., Olsson, S.E., Dreimanis, I. & Olsson, I.G. (1978). Osteochondrosis in growing bulls. Pathology, frequency and severity on different feedings. *Acta radiologica. Supplementum*, 358:179-96.
- Weisbrode S.E., Monke D.R., Dodaro S.T. & Hull B.L. (1982). Osteochondrosis, degenerative joint disease, and vertebral osteophytosis in middle-aged bulls. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 181:700-705.
- Trostle, S.S., Nicoll, R.G., Forrest, L.J. & Markel, M.D. (1997). Clinical and radiographic findings, treatment, and outcome in cattle with osteochondrosis: 29 cases (1986-1996). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211: 1566-1570.
- Trostle, S.S., Nicoll, R.G., Forrest, L.J., Markel, M.D. & Nordlund, K. (1998). Bovine Osteochondrosis, *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian 1998*, 20:856-863.

Del 3: Resultatförmedling

Vetenskapliga publiceringar	<i>Preliminär titel; Ny ultraljudsmetod för utvärdering av knäleder hos nötkreatur fokuserat på tjurar av köttras. Hansson K., Ekman S., Båge R., Persson Y., Häggblom L. Svensk Veterinärtidning, hösten 2019.</i>
	<i>Preliminär titel; A new Ultrasound Technique to Evaluate the Soundness of Bovine Stifle Joints in Beef Bulls. Hansson K., Ekman S., Båge R., Persson Y., Häggblom L. Acta Vet Scand., hösten 2019.</i>
Övriga publiceringar	Avelstjuren. Persson Y., Båge R. Växa Sverige Nytt, sid. 16-17, september 2018.
	Kolla tjuren och rädda lönsamheten. Persson Y., Båge R., Ordell A. Nötkött nr 3, sid. 52-53, 2018.
	Hälsokoll av tjuren. Widebeck L. (intervju med Persson Y., och Båge R.). Nötkött nr 1, sid. 22-23, 2018.
Muntlig kommunikation	Examensarbete (se nedan), muntlig presentation, 16 februari 2018.
	Bull fertility – Theory to Practice. Westport, Co Mayo Ireland, 27 – 30 maj 2018.
	Avelstjurens fruktsamhet. Persson Y. Gård & Djurhälsa nötköttsseminarium. 17 januari 2019.
	Ultraljud av osteochondros i knäleden på avelstjurar. Hansson K. och Båge R. Vårmöte Växa Sverige, 15 maj 2019. <i>Kommande presentation.</i>
	<i>Preliminär titel; A new Ultrasound Technique to Evaluate the Soundness of Bovine Stifle Joints in Beef Bulls. Hansson K., Ekman S., Båge R., Persson Y., Häggblom L. EVDI, Basel, Schweiz, augusti 2019. Abstrakt kommer att sändas in när kongressens mottagningsfunktion öppnas.</i>
	<i>Preliminär titel: Ny ultraljudsmetod för utvärdering av knäleder hos nötkreatur fokuserat på tjurar av köttras. Hansson K., Ekman S., Båge R., Persson Y., Häggblom L. Veterinärkongressen, Husdjurssymposium, hösten 2019. Abstrakt kommer att sändas in när kongressens mottagningsfunktion öppnas.</i>
Studentarbete	Lotta Häggblom 2018. Ny ultraljudsmetod för utvärdering av knäleder hos nötkreatur fokuserat på tjurar av köttras. Examensarbete, 30 hp inom veterinärprogrammet. https://stud.epsilon.slu.se/13607/11/haggblom_1_180522.pdf