

Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie  
ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin  
e-mail: marek.szczubial@up.lublin.pl

MAREK SZCZUBIAŁ

### **Kształtowanie się stężenia IFN- $\gamma$ w surowicy sów z zespołem MMA**

---

Concentration of IFN- $\gamma$  in serum of sows with MMA syndrome

**Streszczenie.** Badania przeprowadzono na 10 swniach, u których po porodzie wystąpiły objawy MMA (grupa doświadczalna) i 10 zdrowych swniach (grupa kontrolna) pochodzących z jednego gospodarstwa o zamkniętym cyklu produkcyjnym. Stężenie IFN- $\gamma$  mierzono 48–72 i 12–24 godz. przed porodem oraz 12–24 i 48–72 godz. po porodzie komercyjnym testem ELISA. Badania wykazały statystycznie istotnie wyższe stężenia IFN- $\gamma$  w surowicy sów grupy doświadczalnej niż grupy kontrolnej zarówno przed porodem, jak i po porodzie. Wskazuje to na udział IFN- $\gamma$  w patogenie zespołu MMA. Oznaczanie stężenia IFN- $\gamma$  w surowicy sów w okresie okołoporodowym może być przydatne do wczesnego diagnozowania oraz monitorowania przebiegu tej choroby.

**Słowa kluczowe:** cytokiny, IFN- $\gamma$ , zespół MMA, swnie

#### WSTĘP

Zespół *mastitis-metritis-agalactia* (MMA) pozostaje ciągle najczęstszym zaburzeniem okresu okołoporodowego u sów [Hermanson i in. 1978, Bäckström i in. 1984, Persson i in. 1989, Hirsch i in. 2003, Hulten i in. 2003]. Ten zespół chorobowy, związany z procesem zapalnym gruczołu sutkowego i/lub macicy, powoduje na całym świecie duże straty w hodowli wielkostatdnej trzody chlewnej, wynikające głównie z upadków prosiąt wskutek obniżonej mleczności chorych loch [Hirsch i in. 2003, Hulten i in. 2003]. W złożonej etiologii choroby zasadniczą rolę odgrywają zakażenia bakteryjne z dominującym udziałem *Escherichia coli* [Persson i in. 1996, Hirsch i in. 2003, Szczubiał i in. 2003].

Wiadomo, że infekcje indukują serię reakcji miejscowych, zwanych odpowiedzią ostrej fazy, w czasie której dochodzi do uwalniania mediatorów komórkowych – cytokin [Koj 1996]. Cytokiny są małocząsteczkowymi proteinami (poniżej 50 kDA), które po-

przez wpływ na wiele komórek układu immunologicznego odgrywają ważną rolę podczas ostrych i przewlekłych procesów zapalnych [Murtaugh 1994, Alluwaimi 2004]. Poza tym uczestniczą w regulacji proliferacji i różnicowania komórek oraz hematopoezie i naprawie tkanek [Murtaugh 1994, Alluwaimi 2004]. Wydzielane miejscowo cytokiny działają na inne komórki gospodarza, prowadząc do reakcji systemowej, manifestującej się gorączką, leukocytozą, zwiększonym poziomem hormonów i zmienionym składem białek osocza [Koj 1996]. W przypadku nadprodukcji cytokin dochodzi do destrukcji tkanek, wielu chorób lub nawet śmierci [Holzheimer 2001].

Początek kaskadzie cytokin daje zwiększenie produkcji czynnika martwicy nowotworu alfa (TNF- $\alpha$ ), prozapalnych interleukin (IL-1,6) i interferonów [Dinarello 1983]. Te cytokiny regulują miejscową reakcję zapalną, a po dostaniu się do krążenia indukują odpowiedź ogólnoustrojową, co w konsekwencji uruchamia kaskadę skomplikowanych reakcji patofizjologicznych prowadzących ostatecznie do zapaści naczyniowej, uogólnionej niewydolności narządowej, a nawet śmierci [Holzheimer 2001]. Produkcja cytokin jest indukowana wkrótce po infekcji [Bannerman i in. 2004]. Zależnie od drobnoustroju, drogi wniknięcia i dawki drobnoustrojów różne cytokiny mogą osiągać wykrywalny poziom w surowicy i być dobrym wskaźnikiem zakażenia [Kragstbjerg i in. 1996, Fossum i in. 1998]. Dlatego oznaczanie cytokin może stanowić ważny element wczesnej diagnostyki infekcyjnych schorzeń, zanim ujawnią się one w postaci objawów klinicznych. Ponadto po wystąpieniu schorzenia poziom cytokin może wskazywać na intensywność procesu zapalnego.

Do cytokin, których poziom może wzrastać w surowicy już w kilka godzin po infekcji należy interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) [Dinarello 1983]. IFN- $\gamma$  jest cytokiną, która ma immunomodulujące i przeciwwirusowe działanie [Blecha 1991]. Bierze również udział w obronie gospodarza przeciwko infekcjom bakteryjnym [Fossum i in. 1998]. Wzrost stężenia IFN- $\gamma$  w surowicy krwi wykazano przy infekcjach wirusowych i bakteryjnych oraz podczas inwazji pasożytniczych [Ronnblohm i in. 1983, Billiau 1987, Heremans i in. 1987, La Bonnardiére i in. 1994, Degre 1996].

Dotychczas niewiele wiadomo na temat stężenia IFN- $\gamma$  w surowicy świń z zespołem MMA. Dlatego postanowiono przeprowadzić badania, których celem było określenie poziomu IFN- $\gamma$  w ostatnich 72 godz. przed porodem i pierwszych 72 godz. po porodzie w surowicy świń, u których wystąpiły objawy MMA.

#### MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na grupie 60 świń rasy wielka biała polska (WBP), polska landrace (PL) oraz WBP  $\times$  PL, w wieku 1–3 lat. Wszystkie zwierzęta pochodziły z jednego gospodarstwa o zamkniętym cyklu produkcyjnym, w którym stado podstawowe liczyło 1200 loch. Lochy od momentu inseminacji przebywały w kojcach bezściołowych, po 6–8 sztuk w każdym. Na około 8–10 dni przed porodem maciory przepędzono do porodówki, w której były umieszczane w pojedynczych kojcach o podłodze rusztowej. W kojcach zwierzęta mogły jedynie stać lub leżeć. Lochy w czasie ciąży karmione były paszą pełnoporcjową zgodnie ze zmieniającym się zapotrzebowaniem na składniki odżywcze i energię. Zwierzęta miały stały dostęp do wody.

Od wszystkich loch pobierano 48–72 i 12–24 godz. przed porodem oraz 12–24 i 48–72 godz. po porodzie po 9 ml krwi z żyły głównej doczaszkowej, do probówek typu vacuette (Greiner Labortechnik GmbH, Austria). Z krwi po odwirowaniu otrzymywano surowicę, którą następnie zamrażano w temp. 76°C i w głębokim zamrożeniu przechowywano do momentu badań.

W ostatnich 3 dniach przed porodem i pierwszych 3 dniach po porodzie wszystkie zwierzęta poddawano badaniu klinicznemu, które obejmowało obserwację apetytu, zachowania oraz objawów chorobowych z poszczególnych układów i narządów, a także dwukrotne w ciągu dnia (rano i wieczorem) mierzenie ciepłoty wewnętrznej. Lochy, u których w ciągu 48 godz. po porodzie wystąpiły objawy kliniczne zespołu MMA w postaci braku apetytu, wzrostu ciepłoty wewnętrznej powyżej 39,8°C, obfitego cuchnącego wypływu ropnego z dróg rodnych oraz zapalenia gruczołu mlekowego i obniżonego wydzielania mleka utworzyły grupę doświadczalną (10 sztuk). Spośród pozostałych klinicznie zdrowych zwierząt 10 losowo wybranych sztuk stanowiło grupę kontrolną.

Chore lochy leczono, podając w iniekcji domięśniowej amoksycylinę (Betamox L.A., Scan Vet, 1 ml/10 kg c.c.) oraz oksytocynę (Inj. Oxitocini, Biowet Puławy, 20–30 j.m.).

Od zwierząt chorych z wypływem z dróg rodnych i/lub zapaleniem gruczołu mlekowego pobierano wymazy z pochwy i/lub próbki mleka do badań bakteriologicznych. Wstępne badanie bakteriologiczne obejmowało posiew pobranego materiału na podłoże Muellera i Hintona z dodatkiem odwłóknionej krwi baraniej, a następnie 24-godzinną inkubację posiewów w temperaturze 37°C. Rodzaj drobnoustrojów znajdujących się w posiewanym materiale określano na podstawie wyglądu kolonii oraz badania mikroskopowego preparatów sporządzonych z pobranych kolonii. Identyfikację Gramujemnych bakterii dokonywano komercyjnym testem API 20E, natomiast paciorkowców i gronkowców testem API 20 Strep i API 20 Staph (bio-Merieux). Wrażliwość bakterii na antybiotyki określano metodą krążkową na podłożu Muellera i Hintona z dodatkiem odwłóknionej krwi baraniej.

Stężenie IFN- $\gamma$  w surowicy loch określano metodą ELISA, używając gotowego zestawu Pig IFN $\gamma$  ELISA, firmy Endogen, Inc. USA.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej, określając średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe. Różnice pomiędzy grupami analizowano testem t-Studenta dla  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  oraz  $p < 0,001$ .

## WYNIKI

U wszystkich loch z zespołem MMA obserwowano wzrost ciepłoty wewnętrznej powyżej 39,8°C, obniżony apetyt lub jego brak, ropny wypływ z pochwy oraz obniżenie lub brak mleczości. Objawy zapalenia gruczołu mlekowego manifestujące się obrzękiem, stwardnieniem, zaczerwienieniem i bolesnością stwierdzono u 6 loch.

W wymazach z dróg rodnych najczęściej izolowano pałeczki *Escherichia coli* – 7 (70%) przypadków. W 3 (30%) wymazach stwierdzono gronkowce. We wszystkich próbkach mleka z zapalnie zmienionego gruczołu mlekowego wykazano obecność *E. coli*.

Drobnoustroje wykazywały największą wrażliwość na streptomycynę, neomycynę i amoksycylinę. W przypadku *E. coli* najwięcej szczepów opornych było w stosunku do penicyliny, kloksacyliny i linkomycyny. Gronkowce były najbardziej odporne na kloksacylinę i linkomycynę.

Tabela 1. Stężenie INF- $\gamma$  w surowicy badanych sów (pg/ml)  
 Table 1. Serum INF- $\gamma$  concentration in examined sows (pg/ml)

Grupa Group	Termin badania – Term of determinations			
	48–72 h przed porodem before parturition	12–24 h przed porodem before parturition	12–24 h po porodzie after parturition	48–72 h po porodzie after parturition
Świnie z zespołem MMA Sows with MMA n = 10	12,47** $\pm$ 6,59	12,13* $\pm$ 8,88	<sup>a</sup> 10,75** $\pm$ 4,16	<sup>b</sup> 15,50*** $\pm$ 2,94
Świnie zdrowe Healthy sows n = 10	3,92 $\pm$ 1,43	4,28 $\pm$ 1,72	4,51 $\pm$ 2,55	3,14 $\pm$ 1,05

<sup>a, b</sup>wyniki oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy  $P < 0.05$ ; results marked with different letters the differ at  $P < 0.05$ , \*istotność różnic przy  $p < 0,05$ ; significance of differences at  $p < 0.05$ , \*\*istotność różnic przy  $p < 0,01$ ; significance of differences at  $p < 0.01$ , \*\*\*istotność różnic przy  $p < 0,001$ ; significance of differences at  $p < 0.001$ .

Rezultaty oznaczeń stężenia INF- $\gamma$  przedstawiono w tabeli 1. Wynika z nich, że świnie, u których po porodzie wystąpiły objawy zespołu MMA miały w ostatnich 72 godz. przed porodem i w pierwszych 72 godz. po porodzie statystycznie istotnie wyższe stężenie INF- $\gamma$  w surowicy w porównaniu ze zwierzętami zdrowymi. W grupie doświadczalnej w obu terminach badań przed porodem stężenie INF- $\gamma$  utrzymywało się na podobnym poziomie. W pierwszych 12–24 godz. po porodzie stężenie INF- $\gamma$  w tej grupie zwierząt obniżyło się nieistotnie, a następnie istotnie wzrosło 48–72 godz. po porodzie, osiągając najwyższą wartość w całym okresie badań (15,50  $\pm$ 6,59 pg/ml). W grupie kontrolnej we wszystkich terminach badań stężenie INF- $\gamma$  miało podobne wartości.

#### DYSKUSJA

Monitorowanie stanu zdrowia zwierząt staje się obecnie jedną z najbardziej racjonalnych metod oceny epidemiologicznej stada, umożliwiającą szybką identyfikację i eliminację infekcji w stadzie, a co za tym idzie zminimalizowanie strat ekonomicznych i poprawę komfortu życia zwierząt. Przeprowadzone badania własne wskazują na przydatność oznaczania INF- $\gamma$  do wczesnego diagnozowania oraz monitorowania przebiegu zespołu MMA u sów. Stwierdzony w ostatnich 72 godz. przed porodem istotnie wyższy poziom INF- $\gamma$  w grupie sów, u których po porodzie wystąpiły objawy MMA wskazuje, że do infekcji indukującej stan zapalny macicy i/lub gruczołu sutkowego doszło przed porodem. Jest to zgodne z badaniami Magnusona i in. [2001], którzy stwierdzili występowanie objawów MMA po porodzie u sów doświadczalnie zakażanych dowymienowo *E. coli* w ostatnich 48 godz. poprzedzających poród. Endotoksyna (LPS) uwalniana przez *E. coli* i inne Gram-ujemne bakterie podczas bakteriolizy lub intensywnego nam-

nażania jest jednym z najważniejszych czynników indukujących produkcję cytokin [Barton i Collateo 1999]. Chociaż LPS jest najważniejszym induktorem produkcji cytokin, to również inne składniki komórek bakteryjnych mogą stymulować ich produkcję [Degre 1996]. Zwiększenie syntezy IFN- $\gamma$  stwierdzono zarówno po podaniu LPS [Dinarelo 1983, Le i in. 1986, Biliau 1987], jak i enterotoksyny gronkowców [Alluwaimi 2004].

IFN- $\gamma$  jest wytwarzany przez pobudzone limfocyty T i komórki NK [Jakóbisiak 2000]. Wiele badań wskazuje, że IFN- $\gamma$  odgrywa ważną rolę w patogenezie zapalenia [Schultz i Kleinchmidt 1983, Heremans i in. 1987]. Wiąże się to głównie z silną aktywacją przez IFN- $\gamma$  makrofagów, co prowadzi do produkcji przez te komórki innych cytokin, takich jak interleukina-1, interleukina-6 oraz czynnika martwicy nowotworu alfa. Poza tym IFN- $\gamma$  ułatwia różnicowanie i wzmacnia cytotoxycytność limfocytów T cytotoxycytnych, zwiększa cytotoxycytność komórek K i NK, wzmacnia ekspresję cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej klasy I i II, wzmacnia fagocytozę [Jakóbisiak 2000]. Razem z innymi cytokinami uczestniczy w różnicowaniu limfocytów B w kierunku komórek uwalniających przeciwciała [Jakóbisiak 2000]. Chociaż bakterie mogą stymulować produkcję IFN- $\gamma$ , to jednak głównymi induktorami są wirusy [Blecha 1991]. Z badań Fossum i in. [1998] wynika, że nie każda infekcja bakteryjna powoduje wzrost poziomu IFN- $\gamma$  w surowicy krwi. Cytowani autorzy nie stwierdzili wykrywalnego poziomu IFN- $\gamma$  po eksperymentalnym zakażeniu świń *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Brak dostępnych danych dotyczących poziomu IFN- $\gamma$  u świń z zespołem MMA uniemożliwia porównanie uzyskanych wyników badań własnych z rezultatami innych autorów.

Przeprowadzone badania wykazały obecność stałego poziomu IFN- $\gamma$  w surowicy zdrowych świń w ostatnich 72 godz. przed porodem i pierwszych 72 godz. po porodzie. Świadczy to o produkcji tej cytokiny u świń w ostatnim okresie ciąży i na początku okresu poporodowego. Uzyskane rezultaty korespondują z danymi piśmiennictwa, z których wynika, że produkcja cytokin odbywa się na każdym etapie ciąży [Zdravkovic i in. 1997, Habisch i in. 2004, Zhu 2007]. Cytokiny biorą udział w rozwoju łożyska, ochronie płodu przed patogennymi drobnoustrojami oraz odgrywają ważną rolę w procesie porodu [Bowen i in. 2002]. Wykazano, że trofoblast jest źródłem znacznych ilości IFN- $\gamma$ , który może brać udział w ochronie płodu przed infekcją [La Bonnardiere i in. 1994, Cencic i in. 2002].

Reasumując, przeprowadzone badania wskazują na udział IFN- $\gamma$  w patogenezie zespołu MMA i sugerują, że oznaczanie stężenia IFN- $\gamma$  w surowicy świń w okresie okołoporodowym może stanowić przydatny marker do wczesnego wykrywania MMA, jeszcze przed wystąpieniem objawów klinicznych choroby. Ponadto poziom IFN- $\gamma$  po wystąpieniu schorzenia może służyć do monitorowania przebiegu choroby i skuteczności jej leczenia.

#### PIŚMIENNICTWO

- Alluwaimi A.M. 2004. The cytokines of bovine mammary gland: prospects for diagnosis and therapy. Res. Vet. Sci. 77, 211–222.
- Bäckström L., Morkoc A.C., Connors J., Price W. 1984. Clinical study of mastitis-metritis-agalactia in sows in Illinois. J. Am. Vet. Med. Ass. 185, 70–73.

- Bannerman D.D., Paape M.J., Lee J.W., Zhao X., Hope J.C., Rainard P. 2004. *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* elicit differential innate immune responses following intramammary infection. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 11, 463–472.
- Barton M. H., Collateo C. 1999. Tumor necrosis factor and interleukin-6 activity and endotoxin concentration in peritoneal fluid and blood of horses with acute abdominal disease. J. Vet. Intern. Med. 13, 457–464.
- Billiau A. 1987. Interferons and inflammation. J. Interferon Res. 7, 559–564.
- Blecha F. 1991. Cytokines: Applications in domestic food animals. J. Dairy Sci. 74, 328–339.
- Bowen J.M., Chamley L., Keelan J.A., Mitchell M.D. 2002. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: roles and regulation during human pregnancy and parturition. Placenta 23, 257–273.
- Cencic A., Henry C., Lefevre F., Huet J., Koren S., La Bonnardiere C. 2002. The porcine trophoblastic interferon- $\gamma$ , secreted by a polarized epithelium, has specific structural and biochemical properties. Eur. J. Biochem. 269, 2772–2781.
- Degre M. 1996. Interferons and other cytokines in bacterial infections. J. Interferon Cytokine Res. 16, 417–426.
- Dinarello C. A. 1983. Molecular mechanisms in endotoxin fever. Agents Actions. 13, 470–475.
- Fossum C., Watrang E., Fuxler L., Jensen K.T., Wallgren P. 1998. Evaluation of various cytokines IL-6, IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  as markers for acute bacterial infection in swine – a possible role for serum interleukin-6. Vet. Immunol. Immunopathol. 64, 161–172.
- Hebisch G., Neumaier-Wagner P.M., Huch R., van Mandach U. 2004. Maternal serum interleukin-1 beta, -6, and -8 levels and potential determinants in pregnancy and peripartum. J. Perinat. Med. 32, 475–480.
- Heremans H., Dijkman R., Sobis H., Vandekerckhove F., Billiau A. 1987. Regulation by interferons of the local inflammatory response to bacterial lipopolysaccharide. J. Immunol. 138, 4175–4180.
- Hermansson I., Einarsson S., Larsson K., Bäckström L. 1978. On the agalactia postpartum in the sow: a clinical study. Nord. Vet. Med. 30, 465–473.
- Hirsch A.C., Philipp H., Kleemann R. 2003. Antiinflammatory drugs. Investigation on the efficacy of meloxicam in sows with mastitis-metritis-agalactia syndrome. J. Vet. Med. A. 26, 355–360.
- Holzheimer R. G. 2001. Antibiotic induced endotoxin release and clinical sepsis: a review. J. Chemother. 13, 159–172.
- Hulten F., Persson A., Eliasson-Selling L., Heldmer E., Lindberg M., Sjogren U., Kugelberg C., Ehlorsson C. 2003. Clinical characteristics, prevalence, influence on sow performance, and assessment of sow-related risk factors for granulomatous mastitis in sows. Am. J. Vet. Res. 64, 463–469.
- Jakóbisiak M. 2000. Immunologia. PWN, Warszawa.
- Koj A. 1996. Initiation of acute phase response and synthesis of cytokines. Biochim. Biophys. Acta 31, 9–18.
- Kragstbjerg P., Holmberg H., Vikerfors T. 1996. Dynamics of blood cytokine concentrations in patients with bacteremic infections. Scand. J. Infect. Dis. 28, 391–398.
- La Bonnardiere C., Lefevre F., Charley B. 1994. Interferon response in pigs: molecular and biological aspects. Vet. Immunol. Immunopathol. 43, 29–36.
- Le J., Lin J.X., Henrikseb-Destefano D., Vilcek J. 1986. Bacterial lipopolysaccharide – induced interferon- $\gamma$  production: roles of interleukin-1 and interleukin-2. J. Immunol. 136, 4525–4531.
- Magnusson U., Pedersen-Morner A., Persson A., Karlstam E., Stenberg S., Kindahl H. 2001. Sows intramammarily inoculated with *Escherichia coli*: influence of time of infection, hormone concentrations and leucocyte numbers on development of disease. J. Vet. Med. B. 48, 501–512.

- Murtaugh M.P. 1994. Porcine cytokines. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 43, 37–44.
- Persson A., Pedersen Morner A.E., Goransson L., Kuhl W. 1989. A long term study on the health status and performance of sows on different feed allowances during late pregnancy. I. Clinical observations, with special reference to agalactia postpartum. *Acta Vet. Scand.* 30, 9–17.
- Persson A., Pedersen Morner A.E., Goransson L., Kuhl W. 1996. A long term study on the health status and performance of sows on different feed allowances during late pregnancy. III. *Escherichia coli* and other bacteria, total cell content, polymorphonuclear leukocytes and pH in colostrum and milk during the first three weeks lactation. *Acta Vet. Scand.* 37, 293–313.
- Ronnblom L., Ojo-Amaize E.A., Franz L., Wigzell H., Alm G.V. 1983. Plasmodium falsiparum parasites induce interferon production in human peripheral blood „null” cells *in vitro*. *Parasite Immunol.* 5, 165–172.
- Schultz R.M., Kleinschmidt W.J. 1983. Functional identity between murine interferon- $\gamma$  and macrophage activating factor. *Nature* 305, 239–245.
- Szczubiał M., Wawron W. 2003. Mikroflora bakteryjna dróg rodnych świń z syndromem MMA i jej wrażliwość na antybiotyki. *Medycyna Wet.* 59, 165–167.
- Zdravkovic M., Knudsen H.J., Liu X., Hager H., Zachar V., Aboagye-Mathiesen G., Ebbesen P. 1997. High interferon alfa levels in placenta, maternal, and cord blood suggest a protective effect against intrauterine herpes simplex virus infection. *J. Med. Virol.* 51, 210–213.
- Zhu Y., Berg M., Fossum C., Magnusson U. 2007. Proinflammatory cytokine mRNA expression in mammary tissue of sows following intramammary inoculation with *Escherichia coli*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 116, 98–103.

**Summary.** Determinations were carried out in 10 sows that developed the MMA syndrome postpartum (experimental group) and in 10 healthy sows (control) from one closed production cycle farm. The levels of IFN- $\gamma$  were measured 48–72 and 12–24 h before parturition as well as 12–24 and 48–72 h postpartum using the ELISA method. The findings revealed a significantly increased level IFN- $\gamma$  in the experimental group both before parturition and postpartum. The results indicate that IFN- $\gamma$  is involved in the pathogenesis of the MMA syndrome and that its determination is useful for early diagnosis and monitoring of the disease.

**Key words:** cytokines, IFN- $\gamma$ , MMA syndrome, sows