



Animal &
Plant Health
Agency

Asiantaeth
Iechyd Anifeiliaid
a Phlanhigion

**Adroddiad APHA ar yr archwiliadau a
gynhaliwyd ar foch daear a ganfuwyd yn
farw yn Ardal Triniaeth Ddwys Llywodraeth
Cymru er mwyn gweld a oeddent wedi'u
heintio â *Mycobacterium bovis*
(OG0145/TBOG0146)**

Adroddiad ar gyfer prosiect

OG0145/TBOG0146

(Blwyddyn 4)

Dyddiad yr adroddiad: 13 Hydref 2016

Mae'r Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion yn un o Asiantaethau Gweithredol Adran yr Amgylchedd, Bwyd a Materion Gwledig sy'n gweithio i ddiogelu iechyd anifeiliaid a phlanhigion er budd pobl, yr amgylchedd a'r economi.

Mae'r Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion yn un o Asiantaethau Gweithredol Adran yr Amgylchedd, Bwyd a Materion Gwledig sy'n gweithio i ddiogelu iechyd anifeiliaid a phlanhigion er budd pobl, yr amgylchedd a'r economi.

Adroddiad yr Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion (APHA) ar yr archwiliadau a gynhaliwyd ar foch daear a ganfuwyd yn farw yn Ardal Triniaeth Ddwys Llywodraeth Cymru er mwyn gweld a oeddent wedi'u heintio â thwbercwlosis buchol (OG0145/TBOG0146)

1. CRYNODEB

Cafodd yr Asiantaeth Iechyd Anifeiliaid a Phlanhigion (APHA) 28 o foch daear marw i'w harchwilio rhwng 1 Mai 2015 a 30 Ebrill 2016. O blith y rhain, roedd 25 yn addas ar gyfer gwaith samplu ac arunigwyd *Mycobacterium bovis* o un o'r anifeiliaid hyn. Roedd gan dri mochyn daear friwiau amlwg a oedd yn awgrymu twbercwlosis (TB) ond nid arunigwyd *Mycobacterium bovis* o unrhyw un o'r anifeiliaid hyn. Yn ail, trydedd a phedwaredd flwyddyn yr arolwg hwn bu cyfran y moch daear lle y cafwyd canlyniad positif yn is nag yn y flwyddyn gyntaf.

2. CYFLWYNIAD

Mae gan yr Ardal Triniaeth Ddwys arwynebedd o tua 288km². Fe'i lleolir yn bennaf yng ngogledd Sir Benfro ac mae hefyd yn cynnwys rhannau bach o Geredigion a Sir Gaerfyrddin. Dechreuodd prosiect pum mlynedd i frechu moch daear gan ddefnyddio brechlyn Bacillus Calmette-Guérin (BCG) y gellir ei chwistrellu ym mis Mai 2012. Ataliwyd y prosiect ym mis Rhagfyr 2015 gan nad oedd cyflenwadau o'r brechlyn ar gael. Rhoddwyd rheolaethau gwartheg ychwanegol ar waith yn yr Ardal Triniaeth Ddwys gyda'r nod o ddileu twbercwlosis buchol. Dechreuodd arolwg o foch daear a ganfuwyd yn farw yn yr Ardal Triniaeth Ddwys ym mis Mehefin 2012. Mae'n cofnodi canlyniadau'r arolwg ar gyfer carcasau a gafwyd rhwng 1 Mai 2015 a 30 Ebrill 2016.

3. DEUNYDDIAU A DULLIAU

Dod o hyd i foch daear a'u casglu

Rhoddwyd gwybod i Lywodraeth Cymru am foch daear a ganfuwyd yn farw yn yr Ardal Triniaeth Ddwys a chasglodd y carcasau a'u hanfon i Ganolfan Ymchwiliadau Milfeddygol APHA yng Nghaerfyrddin. O 1 Ionawr 2016 hysbyswyd Gwasanaethau Maes APHA am achosion o foch daear marw, a chasglodd y carcasau a'u hanfon i Ganolfan APHA. Ar ôl iddynt gael eu casglu cafodd y carcasau eu rhoi mewn dau

fag a, phan gawsant eu hanfon i APHA, anfonwyd ffurflen gyflwyno gyda hwy a oedd yn cynnwys cyfeirnod map a oedd yn dangos lle roedd y mochyn daear wedi'i ganfod. Ar ôl eu derbyn, storiwyd y carcasau rhwng 2°C ac 8°C nes iddynt gael eu harchwilio. Cynhaliwyd archwiliadau cyn gynted â phosibl a chyn pen pedwar diwrnod ar ôl iddynt gael eu derbyn fan bellaf.

Archwiliadau *post mortem* a gwaith samplu yn APHA

Ystyriwyd bod y carcasau yn anaddas:

- os oedd torgest ymysgarol allanol arno a achoswyd gan glwyfau
- os oedd myiasis difrifol ('flystrike')
- os oedd y carcas wedi chwyddo â nwy
- os oedd y carcas wedi'i wasgu'n fflat

Roedd y necropsi yn cynnwys archwiliad allanol, a oedd yn cynnwys archwiliad i weld a oedd unrhyw glwyfau cnoi ar y carcas, tystiolaeth o frechu a thystiolaeth o ymyrraeth anghyfreithlon ac archwiliad allanol o nodau lymff ac ymysgaroedd i weld a oedd unrhyw friwiau a oedd yn awgrymu twbercwlosis. Defnyddiwyd set newydd o offer wedi'u sterileiddio a menig tafladwy ar gyfer pob carcas. Plygwyd y croen yn ôl ar hyd y llinell ganol fentrol ac agorwyd y ceudodau abdomenol a thorasig. Archwiliwyd y nodau lymff a'r organau canlynol i weld a oedd unrhyw friwiau twbercwlosis:

- | | | |
|--------------------|-----------------------------------|----------------------|
| • Mandiblaidd | • Hepatig | • Arwynebol arffedol |
| • Retroffaryngol | • Arennol (os oeddent yn weladwy) | • Cameddol |
| • Serfigol allanol | • Mesenterig | • Ysgyfaint |
| • Ceseiliol | • Gastrig | • Coden bericardaidd |
| • Bronciol | • Coluddaidd mewnol | • Yr afu |
| • Mediastinaidd | • Coluddaidd allanol | • Yr arenau |

Endorrwyd pob nod lymff o leiaf unwaith. Cynhaliwyd archwiliad allanol o'r ysgyfaint, y goden bericardaidd, yr afu a'r arenau. Archwiliwyd yr ysgyfaint drwy wneud sawl endoriad hydredol â blwch o tua chentimetr rhyngddynt. Torrwyd yr afu o leiaf bedair gwaith a thorrwyd yr afu deirgwaith.

Cofnodwyd yr archwiliad a gynhaliwyd i weld a oedd unrhyw farciau clipio blew amddiffynnol a chwistrell liw ar gefn y mochyn daear (defnyddir y rhain yn y maes i nodi moch daear sydd wedi'u brechu dros dro). Hefyd, archwiliwyd cyhyrau ar flaen y forddwyd a chofnodwyd presenoldeb unrhyw friwiau a allai fod yn gysylltiedig â brechlyn.

Gosodwyd meinweoedd i'w meithrin i ganfod a oeddent wedi'u heintio â *M. bovis* mewn cynhwysydd cyffredinol a oedd yn cynnwys 15ml o glorid setylpyridiniwm 1% dyfrllyd. O blith yr holl foch daear addas, casglwyd cronfa o nodau lymff (cronfa 1) a oedd yn cynnwys y nodau lymff retroffaryngol, bronciol, mediastinaidd a hepatic (neu gymaint ag y gellid eu canfod). Os canfuwyd unrhyw friwiau mewnol amlwg a oedd yn awgrymu twbercwlosis pan archwiliwyd pedair organ a 10 nod lymff arall (gweler uchod), neu os canfuwyd clwyfau cnoi, ychwanegwyd y feinwe friwedig a/neu'r clwyfau cnoi toredig at gynhwysydd cyffredinol ar wahân (cronfa 2). Anfonwyd samplau i Ganolfan Starcross APHA ar y diwrnod y'u harchwiliwyd, i'w derbyn y diwrnod canlynol.

Meithrin, teipio moleciwlaidd ac archwiliad histolegol

Ar ôl i Ganolfan Starcross APHA gael y meinweoedd, fe'u golchwyd mewn toddiant 0.85% halwynog wedi'i sterileiddio, fe'u gwnaed yn homogenaidd gan ddefnyddio dulliau safonol, fe'u cyflwynwyd i chwe plât agar 7H11 Addasedig ac fe'u magwyd ar 37°C. Cafodd Cronfa 1, a Chronfa 2 (os cawsant eu casglu), eu meithrin ar wahân. Archwiliwyd y platiau bob wythnos o ddiwedd wythnos dau am hyd at 12 wythnos. Cynaeafwyd arunigion pan oedd y twf cytrefol yn ddigonol at ddibenion genoteipio ac fe'u hanfonwyd i Ganolfan APHA yn Weybridge.

Gwnaed y gwaith genoteipio gan ddefnyddio'r dull sboligoteipio (Kamerbeek ac eraill 1997) a gwaith teipio VNTR ('Exact Tandem Repeat loci A to F', Frothingham a Meeker-O'Connell 1998). Cadarnhaodd y gwaith sboligoteipio bod yr arunigion yn *M. bovis*. Labelwyd genoteipiau o *M. bovis* yn unol â chonfensiwn cyfredol APHA, gan ddefnyddio rhifau i gynrychioli sboligoteipiau a llythrennau bach i gynrychioli patrwm VNTR o fewn pob sboligoteip.

Rheoli data

Cofnodwyd y wybodaeth o ffurflenni casglu carcasau a ffurflenni necropsi, a chanlyniadau meithriniadau i ganfod *M. bovis*, gwaith sboligoteipio a phrofion VNTR ar un o gronfeydd Access Microsoft yng Nghanolfan APHA yn Weybridge.

4. CANLYNIADAU

O blith y 29 o alwadau a gafodd Llywodraeth Cymru, ni chasglwyd wyth mochyn daear am fod saith yn cael eu hystyried yn anaddas ac am na chanfuwyd un mochyn daear. O blith y 15 o alwadau a gafodd APHA ni chasglwyd wyth mochyn daear am na lwyddwyd i ddod o hyd iddynt neu am eu bod yn cael eu hystyried yn anaddas neu am nad oedd unrhyw adnoddau i'w casglu. Hysbyswyd y Cyngor Sir am foch daear yr ystyriwyd eu bod yn anaddas i'w casglu fel rhan o'r prosiect hwn er mwyn iddo eu casglu a'u gwaredu. O blith yr 28 o garcasau a gyflwynwyd i APHA o'r Ardal Triniaeth Ddwys rhwng 1 Mai 2015 a 30 Ebrill 2016, ystyriwyd bod 25 yn addas i'w samplu. Roedd un o'r 25 o foch daear a samplwyd wedi'i heintio â *Mycobacterium bovis*. Dangosir canlyniadau'r archwiliadau a'r meithriniadau yn Nhabl 1 isod:

Tabl 1: Canlyniadau necropsi a meithriniadau i ganfod *Mycobacterium bovis* yng ngharcasau moch daear a dderbyniwyd yn APHA o'r Ardal Triniaeth Ddwys (rhwng 1 Mai 2015 a 30 Ebrill 2016).

Nifer y carcasau o'r Ardal Triniaeth Ddwys yr hysbyswyd Llywodraeth Cymru neu APHA amdanynt ac a welwyd	44		
Nifer y carcasau a gafwyd gan APHA	28		
Nifer y carcasau a samplwyd	Cyfanswm	Cronfa feinweoedd 1 yn unig	Cronfa feinweoedd 1 a 2
	25	20	5
Nifer y carcasau â chlwyfau cnoi	5		
Nifer y carcasau â briwiau amlwg a allai awgrymu twbercwlosis	4		
Nifer y carcasau â briw(iau) ar y cyhyr ar flaen y forddwyd	0		
Nifer y carcasau â thystiolaeth o ymyrraeth anghyfreithlon	1*		
Nifer y carcasau â thystiolaeth o anaf sy'n gysylltiedig â magl	0		
Nifer y carcasau lle y cafwyd canlyniad positif i brawf am <i>Mycobacterium bovis</i> o gronfa feinweoedd 1	1		

Ceir canlyniadau'r gwaith teipio moleciwlaidd a wnaed ar y ddau arunigyn *M. bovis* yn Nhabl 2 isod:

Tabl 2: Canlyniad gwaith teipio moleciwlaidd ar Un arunigyn o *Mycobacterium bovis* o garcas mochyn daear o'r r Ardal Triniaeth Ddwys (rhwng 1 Mai 2015 a 30 Ebrill 2016).

Sboligoteip	VNTR	Genoteip	Nifer yr arunigion
9:	7-5-5-5*-2-2.1	9:an	1

Nodiadau*: Roedd gan un mochyn daear a gyflwynwyd fagl o amgylch ei wddf a hysbyswyd Heddlu Dyfed-Powys am yr achos.

Dangosir lleoliadau carcasu moch daear a oedd yn addas i'w harchwilio yn Ffigur 1 isod:

Ffigur 1: Map o leoliadau moch daear a ganfuwyd yn farw lle y cafodd meinwe ei meithrin i weld a oedd yn cynnwys *Mycobacterium bovis*.



Noder bod rhai moch daear wedi'u canfod yn yr un lleoliad ac, felly, ni ellir eu gweld fel dotiau ar wahân.

5. SYLWADAU

1. Ym mlwyddyn gyntaf yr astudiaeth hon, roedd saith o'r 37 o foch daear a samplwyd (cyfwng hyder o 95% 8-35%) wedi'u heintio â math maes o *M. bovis* (heb gynnwys BCG tebygol). Yn ail flwyddyn yr astudiaeth hon, roedd dau o'r 30 o foch daear a samplwyd (95% CI 1-22%) wedi'u heintio â math maes o *M. bovis*. Yn y drydedd flwyddyn, roedd dau o'r 31 o foch daear a samplwyd (cyfwng hyder o 95% 0.8-21.4%) wedi'u heintio â math maes o *M. bovis*. Yn y bedwaredd flwyddyn, roedd un o'r 25 o foch daear a samplwyd (cyfwng hyder o 95% 0.1-20.4%) wedi'i heintio â math maes o *M. bovis*.
2. Mae'n bosibl nad yw nifer fach y moch daear a ganfuwyd yn farw, a laddwyd yn bennaf o ganlyniad i ddamweiniau traffig y ffyrdd, a'u statws o ran haint twbercwlosis yn gynrychioliadol o'r boblogaeth moch daear a pha mor gyffredin yw twbercwlosis yn yr Ardal Triniaeth Ddwys. Fodd bynnag, am fod y dull samplu yn gyson rhwng y blynyddoedd gellir ystyried eu bod yn gymaradwy.
3. Roedd y dulliau a ddefnyddiwyd yn debyg i'r protocol safonol a ddefnyddiwyd mewn sawl astudiaeth arall (Crawshaw et al 2008), ac eithrio bod y nod lymff hepatic wedi'i ychwanegu at y gronfa safonol (cronfa un yn yr astudiaeth hon) a chyfnod meithrin estynedig o 12 wythnos i wella sensitifwydd y meithriniaid (Crawshaw et al 2008).
4. Dim ond am gyfnod cyfyngedig y bydd marcio moch daear drwy glipio blew amddiffynnol a'u hysgeintio â chwistrell farcio liw yn nodi moch daear sydd wedi'u brechu. Nid yw'r ffaith nad oes unrhyw chwistrell na marciau clipio i'w gweld ac na ellir canfod unrhyw fannau chwistrellu ar y carcas yn golygu o reidrydd nad oedd y moch daear wedi'u brechu. Mae'n bosibl nad oedd yr un o'r moch daear wedi'u brechu yn ystod pedair blynedd y prosiect neu gallai rhai neu bob un ohonynt fod wedi'u brechu yn ystod y cyfnod hwnnw.
5. Mae'r arunigyn o'r math maes o *M. bovis* yn y bedwaredd flwyddyn yn genoteip 9:an sy'n brin iawn ac yn gellwriad VNTR unigol o genoteip 9:b yn ôl pob tebyg. Mae genoteip 9:an *M. bovis* wedi'i ganfod o'r blaen mewn gwartheg yn yr Ardal Triniaeth Ddwys (AHVLA 2013) ac mewn moch daear yn yr Ardal Triniaeth Ddwys yn nhrydedd flwyddyn yr astudiaeth hon.
6. Roedd saith o'r 37 o foch daear wedi'u heintio â *M. bovis* yn y flwyddyn gyntaf, ond dim ond pump o'r 96 o foch daear a oedd wedi'u heintio yn ail,

trydedd a phedwaredd flwyddyn yr astudiaeth. Mae'r cyferbyniad rhwng blwyddyn un a blynyddoedd dau, tri a phedwar ychydig yn sylweddol yn ôl prawf manwl gywirdeb Fisher â dwy gynffon ($P=0.037$). Fodd bynnag, gall cyfran y moch daear lle y cafwyd canlyniad positif newid rhwng blynyddoedd am resymau sy'n annibynnol ar ymyriadau allanol.

7. Mewn astudiaeth fwy o faint a edrychodd ar foch daear a ganfuwyd yn farw o bob rhan o Gymru rhwng 26 Hydref 2005 a 31 Mai 2006, roedd y meithriniad yn bositif yn achos 12% o'r carcasau; ond roedd hyn yn cynnwys carcasau a gyflwynwyd o ardaloedd lle roedd nifer yr achos o dwbercwlosis ymhlith gwartheg yn isel. Mae'r ffigur o naw o 63 o foch daear lle roedd y meithriniad yn bositif yn Sir Benfro yn astudiaeth 2005-6 yn gyson â'r ffigur o saith o 37 o foch daear lle roedd y meithriniad yn bositif ym mlwyddyn gyntaf yr astudiaeth o'r Ardal Triniaeth Ddwys (prawf manwl gywirdeb Fisher $P=0.580$), tra bod pump o 96 (cyfwng hyder o 95% 1.7-11.7%) o foch daear lle roedd y meithriniad yn bositif yn ail, trydedd a phedwaredd flwyddyn yr astudiaeth gryn dipyn yn llai na 12%. Er bod yr Astudiaeth o'r Ardal Triniaeth Ddwys wedi'i chyfyngu i ardal gymharol fach o gymharu ag astudiaeth 2005-6, mae cymhariaeth â'r astudiaeth gynharach yn awgrymu nad oedd cyfran y moch daear lle y cafwyd canlyniad positif ym mlwyddyn gyntaf yr astudiaeth o'r Ardal Triniaeth Ddwys yn anarferol o uchel.

6. CYFEIRIADAU

AHVLA (2013) Bovine tuberculosis: infection status in cattle in GB p 72. Ar gael yn https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/413806/tb-pub-surveport-gb13.pdf

CRAWSHAW, T. R., GRIFFITHS, I. B. & CLIFTON-HADLEY, R. S. (2008) Comparison of a standard and a detailed postmortem protocol for detecting *Mycobacterium bovis* in badgers. *Vet Rec* 163, 473-477

FROTHINGHAM, R. & MEEKER-O'CONNELL, W. A. (1998) Genetic diversity in the *Mycobacterium tuberculosis* complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. *Microbiology* 144 (Pt 5), 1189-1196

GOODCHILD, A. V., WATKINS, G. H., SAYERS, A. R., JONES, J. R. & CLIFTON-HADLEY, R. S. (2012) Geographical association between the genotype of bovine tuberculosis in found dead badgers and in cattle herds. *Vet Rec* 170, 259

KAMERBEEK, J., SCHOOLS, L., KOLK, A., VAN AGTERVELD, M., VAN SOOLINGEN, D., KUIJPER, S., BUNSCHOTEN, A., MOLHUIZEN, H., SHAW, R., GOYAL, M. & VAN EMBDEN, J. (1997) Simultaneous detection and strain

differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* for diagnosis and epidemiology. J Clin Microbiol 35, 907-914

7. DIOLCHIADAU

Mae APHA yn cydnabod cyfraniad y bobl a roddodd wybod am leoliad carcasau moch daear yn yr Ardal Triniaeth Ddwys, a Llywodraeth Cymru am gasglu carcasau ac ariannu'r gwaith hwn.