

# Adolygiad o Ffynonellau Amgylcheddol Twbercwlosis Buchol (*Mycobacterium bovis*)

Cennydd Owen Jones, Arwyn Edwards a Hefin Wyn Williams

*Athrofa y Gwyddorau Biolegol, Amgylcheddol a Gwledig (IBERS),  
Prifysgol Aberystwyth*

Cyflwynwyd: 17 Medi 2020; Derbyniwyd: 3 Ionawr 2021

**Crynodeb:** Mae twbercwlosis buchol (*bovine tuberculosis*; bTB) yn un o brif heriau iechyd a lles anifeiliaid yng Nghymru, a bu'n gyfrifol am ddifa 10,974 o wartheg rhwng Mehefin 2019 a Mai 2020 (DEFRA, 2020). Amcangyfrifir cost flynyddol i'r trethdalwr o £15 miliwn yng Nghymru yn unig i reoli'r clefyd sydd yn cynnwys costau milfeddygol, iawndal i'r ffermwyr, costau gweinyddol, ac ati. Yn ogystal â hyn, mae delio â'r clefyd yn cael effaith ar iechyd meddwl yr holl unigolion sydd ynghlwm ag ef. Mae'r cyswllt rhwng bywyd gwyllt a thwbercwlosis buchol yn amlwg yn bwnc llosg parhaol, ond beth am y rôl y mae'r amgylchedd yn ei chwarae o ran meithrin a lledaenu'r clefyd hwn? Mae rhai gwyddonwyr wedi ymchwilio i'r cwestiwn hwn gan lwyddo i brofi ar lefel labordy bod yr amodau sydd yn bresennol yn amgylchedd y fuwch yn rhai ffafriol i *M. bovis*. Serch hynny, prin yw'r ymchwil ar lefel fferm, yn enwedig mewn ardaloedd sydd yn dioddef achosion cronig o dwbercwlosis buchol. Diben yr adolygiad llenyddiaeth hwn yw amlygu'r sefyllfa bresennol yng Nghymru a'r wyddoniaeth sydd yn bodoli ar hyn o bryd parthed TB buchol amgylcheddol.

**Allweddeiriau:** TB, twbercwlosis, gwartheg, microbiolog, amgylchedd, clefyd, amaethyddiaeth, moch daear.

## A review of environmental reservoirs of bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*)

**Abstract:** Bovine TB (bTB) is one of the main animal health and welfare challenges in Wales and was responsible for the slaughter of 10,974 cattle in Wales between June 2019 and May 2020 (DEFRA, 2020). It is estimated that the disease costs the taxpayer £15 million annually in Wales alone, which includes veterinary costs, compensation to farmers, administrative costs, etc. Furthermore, dealing with the disease has an effect on the mental health of those involved. The link between wildlife and bTB is an obvious one that fuels much debate, but what about the role that the environment plays in nurturing and spreading this disease? There are scientists who have already explored this question by successfully demonstrating at laboratory level that the conditions present in the cow's environment are favourable for *M. bovis*. Despite this, research at farm level remains scarce, especially in areas that suffer from chronic cases of bTB. The purpose of this literature review is to summarise the current situation in Wales, and the state of our knowledge regarding environmental bTB.

**Key words:** TB, bovine TB, cattle, microbiology, environment, disease, agriculture, badgers.

## Twbercwlosis buchol

### 1.1 Cefndir

Mae twbercwlosis mewn cyd-destun milfeddygol yn glefyd sydd yn effeithio ar wartheg yn bennaf ac fe'i hachosir gan y bacteria *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) (Sanchez-Hidalgo et al., 2017). Yn y Deyrnas Unedig (DU), mae twbercwlosis buchol yn glefyd hysbysadwy (*notifiable disease*) (Gov.uk 2018). Yn 1934, amcangyfrifwyd bod dros 40% o wartheg Prydain Fawr wedi'u heintio gan *M. bovis*, gydag o leiaf 5% o'r gwartheg hyn yn cynhyrchu llaeth a oedd yn cynnwys y bacteria (Reynolds 2006). Amcangyfrifir y bu twbercwlosis yn gyfrifol am 6% o holl farwolaethau pobl ym Mhrydain Fawr yn ystod y 1930au (Krebs et al., 1997), er mae'n rhaid pwysleisio bod hyn yn cynnwys heintiau a achoswyd gan *Mycobacterium tuberculosis* yn ogystal â rhywogaethau eraill o'r cymhlygyn sy'n achosi TB (*M. tuberculosis complex* – MTBC). Gall twbercwlosis buchol gael ei achosi gan unrhyw bacteria o'r MTBC, sef *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. orygis*, *M. caprae*, *M. pinnipedii*, *M. suricattae* a *M. mungi* (Sinha et al., 2016). Yn sgil pryderon am iechyd cyhoeddus, cyflwynwyd rhaglenni gwirfoddol ar gyfer profi am dwbercwlosis mewn gwartheg yn 1935, cyn i'r profi ddod yn angenrheidiol yn 1950 (Krebs et al., 1997). Daeth pasteureiddio (gwresogi i ladd bacteria) llaeth yn weithred reolaidd yn y 1930au hwyr, gan lwyddo i leihau'r trosglwyddiad o *M. bovis* o laeth anifeiliaid wedi eu heintio i'r boblogaeth (Krebs et al., 1997). O ganlyniad i'r datblygiad hwn, mae'r ffocws wedi symud i ddelio â *M. bovis* fel clefyd milfeddygol yng Nghymru a'r DU yn hytrach na chlefyd dynol. Bu profi a difa gwartheg wedi'u heintio yn llwyddiannus yn ystod y 1960au a'r 1970au, gan lwyddo i gael mynychder buchesi wedi'u heintio ledled Prydain Fawr i lawr i 0.49% (Krebs et al., 1997). Bu difa eang o foch daear ledled Prydain Fawr ers y gwnaed y canfyddiad eu bod yn gallu cario'r clefyd: parhaodd yr arfer hwn mewn amryw o wahanol ffyrdd nes cyflwyno'r Ddeddf Gwarchod Moch Daear yn 1992 (Godfray et al., 2018). Er bod mynychder twbercwlosis buchol ar ffermydd Prydain Fawr yn isel yn y 1970au a'r 1980au, gwelwyd twf yn nigwyddedd y clefyd yn ystod y 1990au, ac yn benodol yn dilyn gohirio profi am TB yn ystod clwy'r traed a'r genau yn 2001 (Johnston et al., 2011). Ers y twf ar droad y mileniwm, mae TB wedi lledaenu i nifer o ardaloedd ledled y DU (ac eithrio'r Alban). Ceir nifer o resymau am ymlediad y clefyd sy'n cynnwys buchesi mwy o faint, dwysedd stocio uwch a mwy o symud anifeiliaid o gwmpas ardal fwy eang, i enwi ychydig. Disgrifiwyd twbercwlosis buchol fel 'yr her fwyaf sydd yn wynebu iechyd a lles anifeiliaid mewn cenhedlaeth', gan brif swyddog milfeddygol Cymru, yr Athro Christanne Glossop (BBC 2016).

Roedd mynychder TB ar ddaliadau yng Nghymru ar ddiwedd 2019 yn 5.5% (amrywiaeth o ardal TB isel – 0.5% i ardal TB uchel yn y gorllewin – 11.5%), sydd yn dwf o 0.3% o'r flwyddyn gynt, gyda'r mynychder yn Lloegr wedi gostwng 0.4% i 5.3%, gydag amrywiaeth mewn ardaloedd risg o rhwng 0.3% a 10.1% (Dangosfwrdd Ystadegau TB 2020). Diwygiwyd polisi rheoli TB yng Nghymru yn 2017 gyda'r nod o ennill statws swyddogol fel gwlad sy'n rhydd o dwbercwlosis erbyn 2038 (Llywodraeth Cymru 2017).

## 1.2 *Mycobacteria*

Mae twbercwlosis mewn gwartheg yn perthyn i'r genws *Mycobacterium* o facteria, sydd yn cynnwys dros 150 o wahanol rywogaethau (King et al., 2017). Un o rinweddau'r genws hwn o facteria yw bod ganddo gellfur trwchus, sydd yn achosi i nifer o fycobacteria wrthsefyll cyfryngau therapiwtig (Brennan a Nikaido 1995), ac yn eu galluogi i oroesi mewn amgylchoedd anffafriol megis corsydd arfordirol, morydau, tyllau dŵr a phriddoedd sydd yn uchel mewn deunydd organig (Falkinham 2009).

Nid yw pob math o fycobacteriwm yn bathogenaidd, gyda nifer o'r genws yn byw yn y pridd ac yn chwarae rôl bwysig yn torri lawr deunydd organig marw a'i newid yn hwmws (Brennan a Nikaido 1995). Mae *Mycobacterium smegmatis* yn enghraifft o fycobacteriwm nad yw mor bathogenaidd o gymharu ag *M. bovis*. Serch hynny, mae nifer o'r genws, gan gynnwys *M. bovis*, yn bathogenaidd, ac yn bathogenau y dylid eu trafod mewn labordai bioddiogelwch lefel 2 neu 3 (Prifysgol Stanford 2018; Lab Manager 2019).

## 1.3 *Clefyd milheintiol*

Mae twbercwlosis yn cael ei adnabod fel clefyd sydd yn lladd nifer fawr o bobl yn fyd-eang yn flynyddol, gyda 1.4 miliwn o bobl yn marw o'r clefyd bob blwyddyn, ac 8.7 miliwn achos newydd ohono yn y boblogaeth (Sefydliad Iechyd y Byd (WHO) 2012). Rhaid nodi mai *M. tuberculosis* sy'n gyfrifol am y mwyafrif o'r achosion hyn, sydd gan amlaf yn lledaenu o berson i berson, yn enwedig mewn gwledydd llai economaidd-ddatblygedig (WHO 2019). Mae *M. bovis* ar y llaw arall yn glefyd milheintiol sydd hefyd yn achosi twbercwlosis, ac amcangyfrifa Sefydliad Iechyd y Byd (WHO 2019) fod 147,000 achos o *M. bovis* ledled y byd mewn pobl, a'i fod wedi achosi 12,500 o farwolaethau yn 2016. Rhaid pwysleisio mai brasamcan yw'r ffigurau hyn gan fod nifer o'r profion a ddefnyddir i brofi am dwbercwlosis mewn pobl mewn gwledydd llai economaidd-ddatblygedig yn brofion nad ydynt yn gwahaniaethu rhwng *M. bovis* ac *M. tuberculosis*, ac felly mae'n debygol bod nifer yr achosion o heintio gan *M. bovis* yn dipyn uwch (Pérez-Lago, Navarro a García-de-Viedma 2014).

Yn ogystal ag achosi clefyd TB, mae *M. bovis* yn gallu chwarae rôl fel cychwynnydd nifer o glefydau eraill megis Crohn's, diabetes math 1, soriasis, sglerosis gwasgaredig, asthma, arthrosis, awtistiaeth, syndrom Blau a sarcoidosis (Hruska a Kaevska 2012). *M. tuberculosis* sydd yn gyfrifol am y mwyafrif o achosion o dwbercwlosis yn y boblogaeth yn y DU, gan gynnwys achosion diweddar, a effeithiodd ar o leiaf 76 o bobl yn Llwynhendy, Sir Gâr (BBC Cymru Fyw 2019). Er y cyfeirir at achosion o *M. bovis* ac *M. tuberculosis* ill dau fel 'twbercwlosis' (de la Rua-Domenech 2006), *M. bovis* y sonnir amdano yn yr erthygl hon, oni nodir yn wahanol.

Rhwng 2005 a 2008, cafwyd 129 achos o *M. bovis* ym mhoblogaeth y DU (Mandal et al., 2011). Yn 2017, cafwyd 40 achos o *M. bovis* ym mhoblogaeth y DU (35 yn Lloegr, 2 yng Nghymru, 1 yng Ngogledd Iwerddon a 2 yn yr Alban) (Public Health England 2018). Yn dilyn protocolau pasteureiddio, archwiliadau mewn lladd-dai a phrofi gwartheg yn fwy cyson, mae'r risg o drosglwyddo *M. bovis* o anifeiliaid i'r boblogaeth mewn gwledydd mwy economaidd-ddatblygedig wedi gostwng yn sylweddol (de la Rua-Domenech 2006).

Mae arwyddion o'r haint mewn pobl yn cynnwys twymyn, chwysu, peswch cyson, dolur rhydd, colli pwysau a phoenau abdomenol (Gov.uk 2018). Rhan o'r rheswm pam nad yw gwartheg gyda thwbercwlosis yn cael eu trin gyda gwrthfotigau yw er mwyn gallu defnyddio gwrthfotigau i drin pobl wedi'u heintio. Gan amlaf, mae'r driniaeth yn cynnwys cymysgedd o wrthfotigau cryf am 6 mis (Public Health England 2014). Unwaith y bydd person wedi ei heintio, gall *M. bovis* ledaenu i bobl eraill trwy aerosol gan amlaf, gydag unigolion imiwnoataliedig (*immunosuppressed*) yn wynebu'r perygl mwyaf o gael eu heintio (Bilal et al., 2010).

Mae canllawiau iechyd a diogelwch yn nodi bod ffermwyr, milfeddygon a gweithwyr lladd-dai â risg uwch o ddal *M. bovis* oherwydd y tebygolrwydd o ddod i gysylltiad ag aerosol a hylifau corfforol o wartheg heintiedig. Bu enghraifft yn yr 1980au yn Awstralia, lle cafwyd pum achos gwahanol o *M. bovis* mewn dwy flynedd mewn gweithwyr lladd-dai (Robinson et al., 1988). Yn dilyn achosion tebyg, mae'r prosesau o ddelio gydag anifeiliaid wedi eu heintio wedi gwella iechyd a diogelwch gweithwyr a'r gadwyn fwyd yn ei chyfanrwydd.

Mae Mandal et al. (2011) yn dangos bod risg uwch i'r rhan helaeth o'r boblogaeth a gafodd eu geni cyn i basteureiddio cynnyrch llaeth ddod yn gyffredin ddal y clefyd; nid trwy ei ddal o'r newydd, ond trwy actifadu'r TB sydd yn eu system eisoes. Mae data Public Health England (2018) yn cefnogi hyn, gyda 93% o achosion *M. bovis* yn cael eu canfod mewn pobl dros 65 oed, sy'n awgrymu bod y bacteria yn eu cyrff ers iddynt yfed/bwyta cynnyrch llaeth heb ei basteureiddio pan oeddent yn iau. Mae'r data hyn yn dangos bod *M. bovis* fel pathogen yn medru byw am gyfnod hir o fewn y corff mewn cyflwr cwsg, cyn cael ei actifadu yn nes ymlaen. Amcangyfrifir mai 5–10% o'r boblogaeth sydd ag *M. bovis* yn eu systemau fydd yn datblygu arwyddion clinigol o'r clefyd yn ystod eu hoes (Comstock 1982).

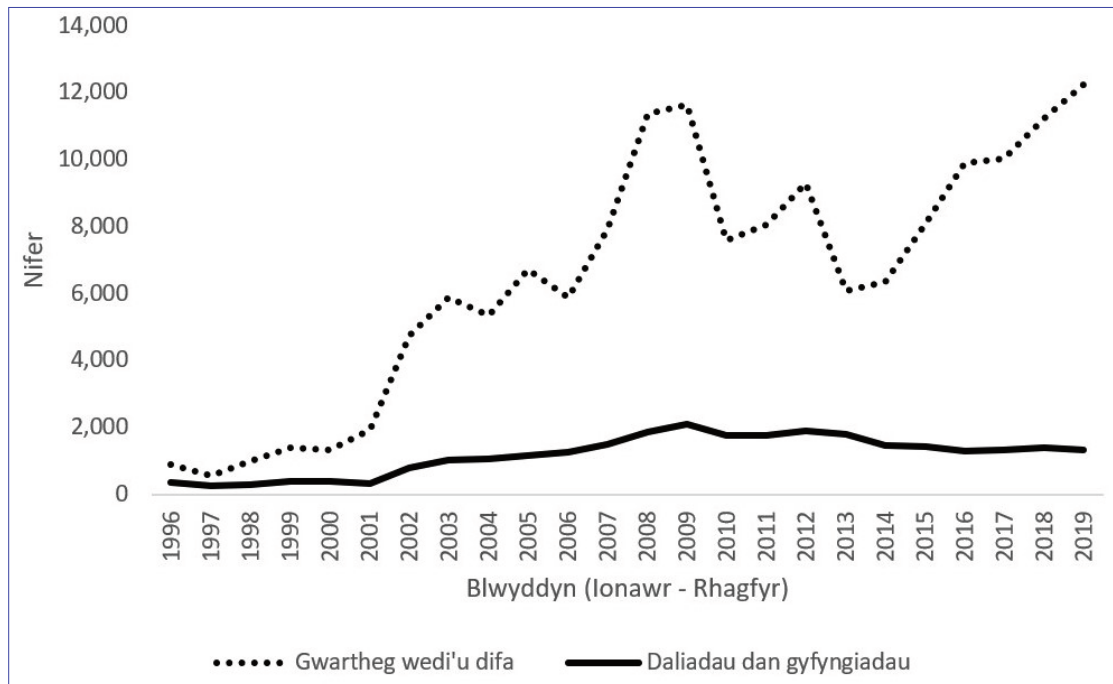
Er bod y tebygolrwydd o ddal *M. bovis* o fwyta cig wedi ei goginio mor isel fel ei fod bron â bod yn amhosibl (Public Health England 2014), mae lladd-dai yn archwilio carcassau gwartheg am ddifrodau twbercwlosis, cyn trosglwyddo sampl o'r meinwe i labordai am gadarnhad, sydd hefyd yn lleihau'r risg y bydd *M. bovis* yn heintio'r boblogaeth (prif bwrpas hyn yw darganfod ffermydd sydd ag anifeiliaid heintiedig) (APHA 2018). Nid yw *M. bovis* yn lluosogi yn gyflym ar gig chwaith, sydd yn gwneud y bacteria yn dra gwahanol i *E. coli* a *Salmonella* (Krebs et al., 1997). Mae Krebs et al. (1997) hefyd yn nodi bod coginio cig yn lladd *M. bovis*. Er hyn, dengys ymchwil pellach nad yw coginio cig eidion sydd â difrodau *M. bovis* yn cael gwared ar bathogenedd y bacteria, a'i fod yn llwyddo i heintio moch cwta (*Cavus porcellus*) (Jibril et al., 2015), sydd yn pwysleisio pwysigrwydd arolygu cig mewn lladd-dai.

Mae gan Sefydliad Iechyd y Byd nod o dargedu achosion o *M. bovis* yn y boblogaeth, yn enwedig yn y rhanbarthau daearyddol yr effeithiwyd arnynt fwyaf, gyda'r amcanion yn cael eu rhannu'n dair rhan:

- Gwella dealltwriaeth wyddonol.
- Lleihau trosglwyddiad rhwng anifeiliaid a phobl.
- Cryfhau gwaith amlddisgyblaethol gan annog dulliau cydweithredol (WHO 2019).

Fel rhan o'u hamcanion ymchwil amlddisgyblaethol, mae WHO yn cydweithio â'r OIE (Sefydliad Iechyd Anifeiliaid y Byd) a'r FAO (Sefydliad Bwyd ac Amaethyddiaeth y Cenhedloedd Unedig) er mwyn cael system 'Iechyd Cyfunol' (*One Health*) i daclo'r clefyd mewn pobl ac anifeiliaid.

### 1.4 *Tubercwlosis buchol yng Nghymru*



Ffigur 1: Nifer y gwartheg a gafodd eu difa yng Nghymru a nifer y daliadau a fu dan gyfyngiadau yn ystod cyfnod o flwyddyn. DEFRA, 2020.

Dengys Ffigur 1 y bu twf sylweddol yn nifer y gwartheg a gafodd eu difa yng Nghymru yn 2019, gyda chynnydd o 9.1% ar y flwyddyn gynt sy'n dod â'r cyfanswm i 12,256 – y nifer uchaf mewn blwyddyn galendr i Gymru ers i DEFRA ddechrau cofnodi'r data yn 1996. Mae Ffigur 1 hefyd yn dangos bod nifer y daliadau a fu dan gyfyngiadau yn ystod y flwyddyn galendr wedi aros yn gymharol gyson yn 2019 o gymharu â'r blynyddoedd cynt (1,350 yn 2019). Er gwaetha'r twf yn nifer y gwartheg a gafodd eu difa, mae nifer yr achosion newydd mewn buchesi a oedd yn glir wedi gostwng bron 4% (DEFRA, 2020), sydd yn awgrymu bod y clefyd yn parhau o fewn y buchesi sydd wedi'u heintio eisoes, ac yn sgil hynny'n heintio mwy o wartheg. Pan fydd buches yn mynd o dan gyfyngiadau twbercwlosis, defnyddir prawf mwy sensitif (a fydd yn cynyddu nifer y gwartheg positif) nes y bydd y fuches yn cyrraedd y gofynion priodol – mae hyn hefyd yn rhan o'r eglurhad am y patrymau a welwyd yn Ffigur 1 o ran y lleihad diweddar mewn achosion newydd mewn buchesi clir. Yn ychwanegol at hyn, mae mynychder twbercwlosis yng Nghymru wedi cynyddu i 5.5% (647 o fuches dan gyfyngiadau allan o 11,801) (Dangosfwrdd Ystadegau TB 2020). Mae'r ganran

uchaf o achosion TB yn parhau i fod yn yr ardal TB uchel yn y gorllewin, gyda 67.5% o'r holl wartheg a gafodd eu difa yng Nghymru yn 2019 yn dod o ddaliadau yn yr ardal hon (DEFRA 2020). Mae nifer y daliadau a oedd o dan gyfyngiadau TB yn yr ardal TB uchel wedi gostwng o 470 i 450 ar ddiwedd 2019 o gymharu â'r flwyddyn gynt (DEFRA 2020).

## 2 Cronfeydd *M. bovis*

O graffu ar leoliadau difrodau *M. bovis* ar garcasau gwartheg mewn lladd-dai, mae modd darogan sut yr heintiodd y clefyd yr anifail. Mae mwyafrif y difrodau'n cael eu darganfod yn y system resbiradol, sy'n awgrymu trosglwyddiad ar ffurf aerosol (Phillips et al., 2003). Pan fydd buwch heintiedig yn pesychu, mae'n ffurfio aerosol o *M. bovis*, gyda 94% o'r aerosol yn parhau i fod yn bathogenaidd am 10 munud yn yr aer, ac yn arddangos hanner oes (*half-life*) o 1.5 awr (Gannon et al., 2007). Mewn buchesi modern, mae gwartheg yn dod i gysylltiad â'i gilydd yn gyson, gan gynnig cyfleoedd i drosglwyddo *M. bovis* o un fuwch i'r llall wrth i fuwch iach anadlu aerosol buwch heintiedig (Courtenay et al., 2006; Palmer, Walters a Whipple 2002). Serch hynny, mae difrodau'n parhau i gael eu darganfod (gan amlaf dan amodau post-mortem) ym meinwe'r gadair, y system dreulio ac ardaloedd eraill nad ydynt gan amlaf yn cael eu harchwilio mewn lladd-dai (Whipple et al., 1996).

### 2.1 Gwartheg

Mewn buchesi sydd wedi'u heintio gyda thwbercwlosis, gall gwartheg heintiedig drosglwyddo *M. bovis* i wartheg eraill o fewn 28 diwrnod iddynt gael eu heintio (Cassidy et al., 1999). Y prif arf a ddefnyddir yn y DU i ddarganfod gwartheg sydd wedi'u heintio gan dwbercwlosis yw'r prawf croen, sydd wedi'i ddefnyddio ers dros ganrif. Chwistrellir dau ddeilliad proteinau puredig (PPD) o *M. bovis* ac *M. avium* i groen yr anifail gan filfeddyg. Mae ymateb imiwn yn achosi i'r croen chwyddo ac felly bydd y milfeddyg yn archwilio'r croen 72 awr yn ddiweddarach i feintio'r chwydd a welir. Byddai dros 4mm yn fwy o chwydd ar y safle *M. bovis* o gymharu â'r safle *M. avium* yn dynodi anifail positif o dan amodau safonol, er gellir newid y dehongliad i fod yn un 'difrifol' mewn buchesi lle y mae hanes sylweddol o'r clefyd sydd yn newid y trothwy o 4mm i 2mm o chwydd (Srinivasan et al., 2019).

Dengys Tabl 1 nad yw'r prawf croen a ddefnyddir yn y DU yn un arbennig o dda ar gyfer adnabod unigolion wedi'u heintio, yn enwedig mewn buchesi gydag achosion uchel o dwbercwlosis oherwydd ei sensitifrwydd isel (gallu'r prawf i adnabod anifeiliaid heintiedig yn gywir) (Karolemeas et al., 2012). O ganlyniad, mae'n debygol iawn bod gwartheg heintiedig yn cael eu dynodi yn rhydd o'r clefyd ar gam, yn enwedig mewn buchesi sydd ag achosion uchel o dwbercwlosis. Oherwydd hyn, mae'n debygol fod y pathogen yn lledaenu ymhellach; boed yn uniongyrchol i wartheg neu anifeiliaid gwyllt, neu i'r amgylchedd. Er bod y sensitifrwydd yn is na'r sefyllfa ddelfrydol, mae penodolrwydd y prawf (y gallu i adnabod anifail nad yw'r clefyd arno yn gywir) yn dipyn gwell o dan amodau safonol (Goodchild et al., 2015). Pan fydd buches yn mynd dan gyfyngiadau, mae'r prawf yn newid o ddehongliad *safonol* i un *difrifol*, sydd yn cynyddu'r sensitifrwydd, ond mae'r penodolrwydd yn gostwng (Tabl 1). Mae'n ymddangos bod y PPD a ddefnyddir fel rhan



Math o brawf	Sensitifrwydd	Penodolrwydd
<b>Prawf croen (dehongliad safonol)</b>	80% (70 – 89%) (Karolemeas <i>et al.</i> , 2012)	99.98 (99.979 – 99.987%) (Goodchild <i>et al.</i> , 2015)
<b>Prawf croen (dehongliad difrifol)</b>	85% (78 – 91%) (Karolemeas <i>et al.</i> , 2012)	99.91% (99.897 – 99.923%) (Goodchild <i>et al.</i> , 2015)
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	90% (87.2 – 92.8%) (Godfray <i>et al.</i> , 2018)	96.6% (85 – 99.6%) (Godfray <i>et al.</i> , 2018)
<b>IDEXX ELISA</b>	64.6% (59.7 – 69.5%) (Godfray <i>et al.</i> , 2018)	98% (97.5 – 98.4%) (Godfray <i>et al.</i> , 2018)

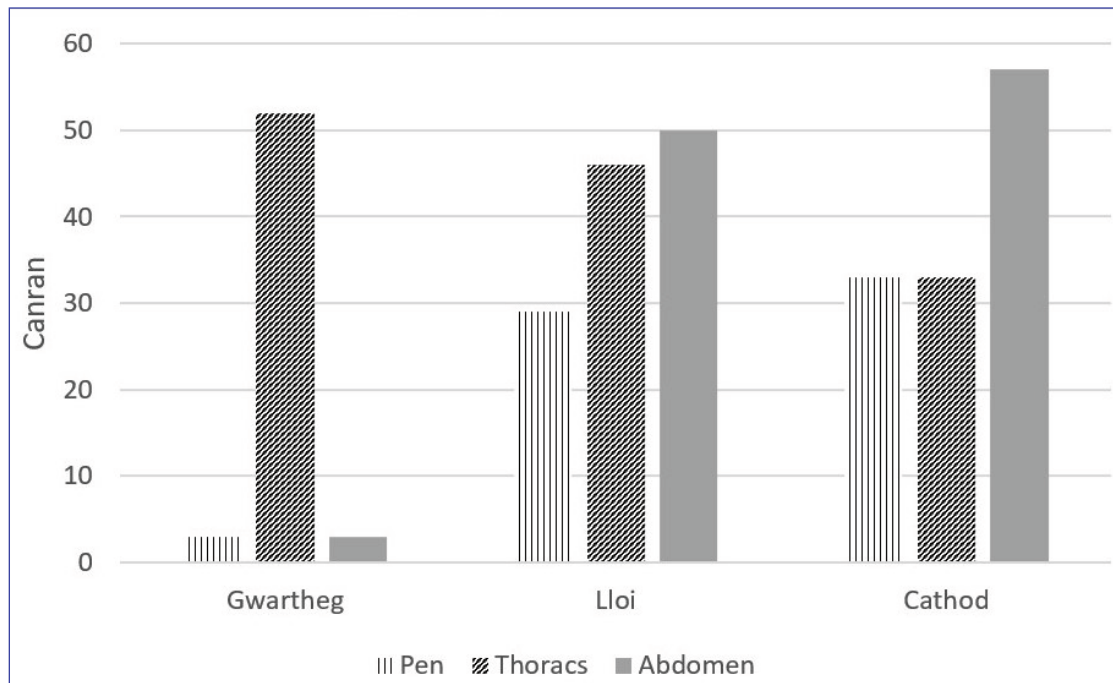
Tabl 1: Cymhariaeth sensitifrwydd a phenodolrwydd profion sydd wedi eu dilysu gan yr OIE ar gyfer twbercwlosis mewn gwartheg. Nodir y cyfwng hyder mewn cromfachau.

o'r brechiad adeg profi gyda'r prawf croen hefyd yn lleihau effeithlonrwydd profion am glefydau eraill megis profion ELISA am glefyd Johnne o fewn 10 wythnos i'r prawf croen am dwbercwlosis (Kennedy *et al.*, 2014).

Mewn rhai achosion, mae modd defnyddio prawf gwaed Interfferon-gama (IFN $\gamma$ ) i gyd-fynd â'r prawf croen, yn benodol er mwyn adnabod anifeiliaid mewn cyfnod cynnar o'r haint (Gormley *et al.*, 2006). Gellir dadlau bod y sensitifrwydd uwch sydd ar gael o'r IFN $\gamma$  yn ei wneud yn brawf gwell ar gyfer canfod twbercwlosis, ond oherwydd y penodolrwydd is, byddai llawer mwy o wartheg sy'n negatif am dwbercwlosis yn ymddangos yn positif yn yr IFN $\gamma$  (oddeutu 3–4 o bob 100 a brofir), a fyddai'n broblem mewn buchesi gydag achosion isel o'r clefyd. O achos ei sensitifrwydd a'i benodolrwydd is o gymharu â'r profion eraill, defnyddir IDEXX ELISA fel prawf ategol mewn ffermydd sydd ag achosion uchel o'r clefyd, gyda'r un nod â'r IFN $\gamma$ , sef canfod anifeiliaid y byddai'r prawf croen wedi'u methu (Llywodraeth Cymru 2020).

Ers 1921, defnyddiwyd *M. bovis Bacille Calmette-Guerin* (BCG) fel brechlyn yn erbyn TB dynol (Brewer a Colditz 1995) er bod astudiaethau yn dangos bod y brechlyn yn aneffeithiol mewn oedolion (ICMR 1999). Profwyd bod y straen *M. bovis BCG* yn frechlyn effeithiol gogyfer gwarchod gwartheg rhag *M. bovis* (Rizzi *et al.*, 2012), gyda lloi heb eu brechu 2.4 gwaith yn fwy tebygol o ddal twbercwlosis o gymharu â lloi wedi'u brechu (Lopez-Valencia *et al.*, 2010). Y prif reswm pam nad yw *M. bovis BCG* yn cael ei ddefnyddio fel arf yn erbyn twbercwlosis mewn gwartheg ar hyn o bryd yw ei fod yn achosi ymateb positif i'r prawf croen presennol; hynny yw, nid yw'r prawf yn gallu gwahaniaethu rhwng anifeiliaid wedi eu heintio â rhai wedi eu himiwneddio. Ymgeisiodd Buddle *et al.* (2011) frechu lloi gyda chyfanswm is o *M. bovis BCG* mewn ymgais i gryfhau imiwnedd, heb achosi ymateb i'r prawf croen. Dengys fod lloi a oedd wedi eu dosio gyda  $10^8$  uned ffurfio cytref

(CFU) o *M. bovis* BCG yn dangos cryfder yn eu himiwnedd yn erbyn *M. bovis*, ond yn ymateb yn bositif i'r prawf croen, ac er nad oedd hyn yn ymyrryd â chanlyniadau'r prawf croen yn achos lloi gyda  $10^6$  a  $10^7$  CFU o *M. bovis* BCG, nid oedd yn driniaeth ddigonol i gynyddu imiwnedd, oherwydd cafodd y grŵp hwn o loi eu heintio (Buddle et al., 2011). Byddai strategaeth o frechu gwartheg o gymorth enfawr i'r polisi o reoli twbercwlosis, ond mae'n rhaid cael prawf sy'n gallu gwahaniaethu rhwng anifeiliaid heintiedig a rhai sydd wedi eu brechu cyn ei ystyried ymhellach (Srinivasan et al., 2019).



Ffigur 2: Canran meithrin *M. bovis* mewn rhannau gwahanol o'r corff mewn gwartheg godro (n=56), lloi (n=24) a chathod domestig (n=21). Addaswyd o Fitzgerald et al., 2016.

Aerosol yw'r brif ffordd o drosglwyddo *M. bovis* o fuwch i fuwch (oedolion), yn benodol i ledaenu'r bacteria i'r ysgyfaint (Ffigur 2; Palmer, Walters a Whipple 2002; Waters et al., 2006). Er bod difrodau gan amlaf yn ffurfio yn y system resbiradol, mae'n debygol bod y fuwch yn amlyncu *M. bovis* yn ystod y broses o besychu, sydd yn achosi i'r bacteria fynd trwy'r system dreulio a chael eu bwrw allan mewn tail, llaeth, ac ati. (Robinson 2019). Yn dilyn archwiliadau o anifeiliaid positif am *M. bovis* mewn lladd-dai rhwng 1986 a 1994, gwelwyd bod y rhan fwyaf o ddifrodau (69.2%) yn y thoracs, sydd yn cefnogi'r ddamcaniaeth mai trwy aerosol y ceir y trosglwyddiad pennaf rhwng gwartheg (Goodchild a Clifton-Hadley 2001).

Fel y mae'r achosion o *M. bovis* ym mhoblogaeth y DU cyn pasteureiddio yn ei gadarnhau, gellir trosglwyddo'r clefyd trwy'r llaeth (Public Health England 2018; Erequat et al., 2013). Mae llaeth amrwd o wartheg heintiedig yn cael ei adnabod fel ffynhonnell TB mewn lloi a



chathod, oherwydd bod *M. bovis* yn cael ei amlyncu, sy'n achosi difrodau yn yr abdomen (Fitzgerald et al., 2016).

Yn gefnogol i Ffigur 2, pan gymharwyd pum llo wedi'u heintio ag *M. bovis* yn eneuol gyda phum llo wedi eu heintio â *M. bovis* yn resbiradol, darganfuwyd mwy o ddifrodau yn y thoracs (5 allan o 5 wedi profi'n bositif wrth feithrin meinwe, prawf chi sgwâr,  $P < 0.001$ ) a'r ysgyfaint (3/5,  $P < 0.05$ ) yn y llo wedi'u heintio'n resbiradol o gymharu â'r difrodau (2/5,  $P = 0.23$ ) a'r meithriniadau positif (4/5,  $P < 0.05$ ) a welwyd yn abdomen y llo wedi eu heintio'n eneuol (Serrano et al., 2018). Gwelwyd meinwe abdomen un llo a gafodd ei heintio'n resbiradol yn ymateb yn bositif ( $P < 0.05$ ) (Serrano et al., 2018).

Mae hefyd yn bosibl i wartheg sydd wedi profi'n negatif am *M. bovis* yn y prawf croen barhau i drosglwyddo *M. bovis* yn eu llaeth, oherwydd sensitifrwydd is y prawf croen (Zarden et al., 2013). Dengys Ffigur 2 bod trosglwyddiad *M. bovis* o wartheg i loi yn digwydd o ganlyniad i'r llo yn amlyncu'r bacteria, oherwydd i ganran uchel o *M. bovis* gael ei feithrin o'r abdomen, yn hytrach nag o'r thoracs a'r pen. Oherwydd y canfyddiadau hyn, mae Llywodraeth Cymru (2019b) yn argymhell y dylai ffermwyr basteureiddio llaeth amrwd cyn ei fwydo i loi'r fferm.

## 2.2 Bywyd gwyllt

Rhywogaeth	Mynychder <i>M. bovis</i>	Nifer a samplwyd
Gwahaddod ( <i>Talpa europaea</i> )	1.21%	166
Cadnoaid ( <i>Vulpes vulpes</i> )	1.15%	954
Mincod ( <i>Mustela vison</i> )	0.58%	172
Llygod ffyrnig ( <i>Rattus norvegicus</i> )	1.21%	412
Ceirw gwyllt: ceirw coch ( <i>Cervus elaphus</i> ), iyrchod ( <i>Capreolus capreolus</i> ), danasod ( <i>Dama dama</i> ), ceirw sica ( <i>Cervus nippon</i> )	1.05%	1,817
Ffwlbartod ( <i>Mustela putorius furo</i> )	3.85%	26
Moch daear ( <i>Meles meles</i> )	4.05%	21,731

Tabl 2: Mynychder *M. bovis* mewn bywyd gwyllt. Addaswyd o Krebs et al., 1997.

Darganfuwyd *M. bovis* mewn moch daear am y tro cyntaf yn 1971 (Muirhead, Gallagher a Burns 1974). Un o'r awgrymiadau o adolygiad Krebs et al. (1997) oedd bod perthynas gref rhwng y twbercwlosis yn y mochyn daear Ewropeaidd (*Meles meles*) a'r clefyd mewn gwartheg, er roedd y dystiolaeth mai'r mochyn daear a oedd yn gyfrifol am ledaenu twbercwlosis i wartheg yn dipyn llai cadarn. Rhwng 1972 a 1994, gwnaeth MAFF (y Weinyddiaeth Amaeth, Pysgodfeydd a Bwyd; bellach wedi newid i DEFRA) samplu 21,731

o foch daear ym Mhrydain am *M. bovis*, gyda 4.05% yn profi'n bositif i'r haint (880) (Krebs et al., 1997). Dengys Tabl 2 fynychder *M. bovis* mewn bywyd gwyllt o astudiaeth Krebs et al. (1997), ond mae'n bwysig nodi bod tuedd yn y data oherwydd i niferoedd uchel o foch daear gael eu samplu fel rhan o ymgyrch gan MAFF rhwng 1972 ac 1996. Mae Krebs et al. (1997) hefyd yn cydnabod nad yw'r mynychder mewn moch daear yn adlewyrchiad diduedd yn yr astudiaeth, oherwydd daeth 40% o'r samplau o aelodau'r cyhoedd yn riportio ynghylch moch daear trig sydd wedi'u canfod ar yr heolydd, a gall hyn olygu bod pobl sydd yn fwy ymwybodol o dwbercwlosis yn fwy tebygol o riportio ynghylch moch daear i MAFF. Samplodd Mathews et al. (2006) fywyd gwyllt am *M. bovis*, gan ddod i ganfyddiad bod mynychder tipyn is ymysg bywyd gwyllt, ond ei fod yn uwch ymysg moch daear. Gwnaeth 2 allan o 16 rhywogaeth (y llygoden bengron goch (*Clethrionomys glareolus*) a'r mochyn daear (*Meles meles*)) ddangos arwyddion o'r clefyd gan gynrychioli mynychder o 0.1% a 7% ar draws samplau eu rhywogaeth (Mathews et al., 2006). Mewn arolwg o foch daear wedi eu darganfod yn farw yng Nghymru rhwng 2014 a 2016, llwyddwyd i feithrin *M. bovis* mewn 50 allan o 681 carcass, sy'n golygu mynychder TB cenedlaethol o 7.3% (cyfwng hyder 95% 5.6%-9.5%) (Schroeder et al., 2020). Wrth ddadansoddi'r data o fewn ardaloedd rheolaeth TB Llywodraeth Cymru (2017), gwelwyd bod y mynychder yn yr ardal TB uchel yn y dwyrain (sydd yn ffinio â Lloegr) yn 18.6% (12.7-26.2%), sy'n dipyn uwch na'r ardal TB uchel yn y gorllewin sydd yn 7.4% (4.7-11.2%,  $P=0.003$ ) (Schroeder et al., 2020). Yn yr ardaloedd TB isel a chanolig, gwelwyd mynychder o TB mewn carcassau moch daear o 0.7% (0.1-4.0%) a 2.7% (1.1-6.7%) (Schroeder et al., 2020).

Gan nad yw moch daear yn cael eu monitro ar gyfer y clefyd yn yr un modd â gwartheg, mae defnyddio *M. bovis* BCG i'w brechu yn strategaeth a ddefnyddiwyd gan Lywodraeth Cymru a DEFRA. Dengys gwaith gan Chambers et al. (2011) bod brechu moch daear gyda BCG yn gallu lleihau'r achosion ohonynt yn profi'n bositif am *M. bovis* hyd at 73.8%, ac o ganlyniad yn lleihau'r trosglwyddiad o fywyd gwyllt i wartheg ac o wartheg i fywyd gwyllt. Gwelodd Corner et al. (2010) fod moch daear a gafodd eu brechu ac yna eu heintio 17 wythnos ar ôl y brechiad yn dangos llai o safleoedd gyda difrodau, difrodau llai o faint, a llai o lwyth bacteria yn yr ysgyfaint o gymharu â moch daear heb eu brechu. Yn yr un modd nad yw'r brechlyn *M. bovis* BCG mor effeithiol mewn oedolion o gymharu â phlant, credir bod yr un peth yn wir mewn moch daear a gwartheg â'u hepil, oherwydd dangosodd anifeiliaid hŷn (sydd wedi dod i gysylltiad â TB amgylcheddol) ymateb imiwn is i'r brechlyn *M. bovis* BCG o gymharu ag anifeiliaid iau (Buddle et al., 2002). Er y buddion o frechu moch daear, rhaid cofio nad yw BCG yn llwyddo i roi imiwnedd 100% yn erbyn twbercwlosis (Balseiro et al., 2020), ac mae sicrhau bod y boblogaeth gyfan o foch daear mewn ardal yn cael eu brechu bron yn amhosibl, felly mae'r cyfuniad hwn yn golygu nad yw'r cynllun brechu mor llwyddiannus ag y gallai fod.

Cafodd cynllun difa moch daear ar hap (*The randomised badger culling trial* – RBCT) ei gynnal yn Lloegr rhwng 1998 a 2005. Diben yr RBCT oedd targedu ardaloedd penodol er mwyn naill ai:

- I. Difa moch daear mewn modd rhagweithiol;
- II. Difa moch daear mewn modd ymatebol; neu
- III. Monitro yn unig.

Er i ganlyniadau'r RBCT nodi bod cwmp arwyddocaol yn nifer y gwartheg gyda thwbercwlosis yn yr ardaloedd lle cafodd moch daear eu difa (23.2%, CH 95% 12.4–32.7%), roedd yr ardaloedd a oedd o fewn 2 km wedi gweld cynnydd yn nifer y gwartheg gyda thwbercwlosis o 24.5% (CH 95% cwmp 0.6% – cynnydd o 56.0%). Awgryma hyn bod moch daear heintiedig yn mudo o ardaloedd lle cynhelir cynllun difa (Donnelly et al., 2007). Pwysleisia hyn bwysigrwydd cael strategaeth glir wrth geisio mynd i'r afael â chlefyd mewn poblogaeth o anifeiliaid gwyllt (Robinson et al., 2012). Fel rhan o gynllun difa moch daear DEFRA yn Lloegr, brechwyd moch daear mewn ardaloedd sydd yn ffinio ag ardaloedd lle y mae difa rhagweithiol yn digwydd er mwyn ceisio lleihau mudiad moch daear wedi eu heintio.

Yn Seland Newydd, adnabyddir posymod (*Thricosurus vulpecula*) fel anifeiliaid gwyllt sy'n cario *M. bovis*, gydag astudiaethau yn cydnabod bod posymod yn chwarae rôl bendant o ran lledaenu *M. bovis* i wartheg (Porphyre, McKenzie a Stephenson 2011), sydd yn wahanol i awgrymiadau Krebs et al. (1997) parthed rôl bywyd gwyllt mewn heintio gwartheg ym Mhrydain Fawr. Adnabyddir y gellir cysylltu'r rhan fwyaf o'r achosion newydd o dwbercwlosis mewn gwartheg a cheirw yn Seland Newydd yn uniongyrchol â phosymod heintiedig (Hutchings, Hancox a Livingstone 2013).

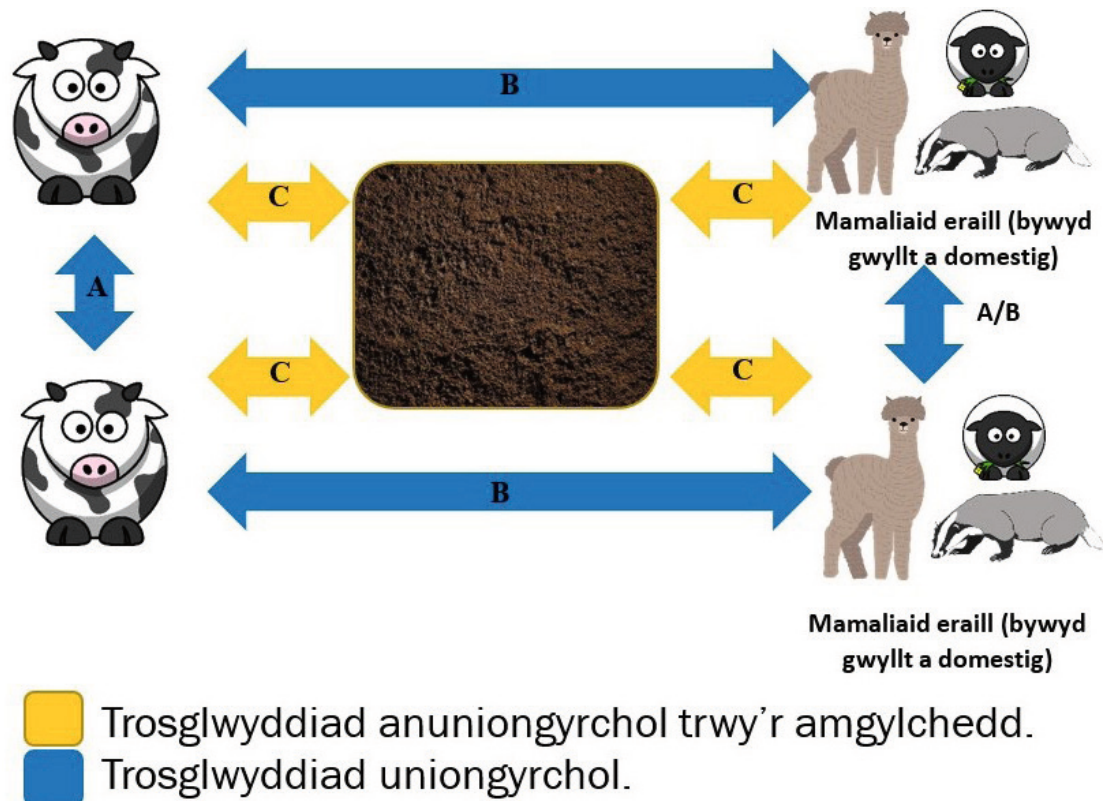
Yng Nghymru, adnabyddir sawl mamolyn gwyllt fel rhywogaethau sy'n gallu cario *M. bovis*, gyda meinwe cadnoaid, ceirw a hyd yn oed morloi wedi profi'n bositif am *M. bovis* yn 2012 (Harris et al., 2014). Mae'r ffaith y gall nifer o famolion gwyllt ddal *M. bovis* yn ei wneud yn glefyd sy'n anodd ei reoli mewn bywyd gwyllt (de la Rua-Domenech 2006). Yn ychwanegol, mae'r ystod eang o gyd-fyw rhwng bywyd gwyllt a gwartheg, yn ogystal â diffyg profi bywyd gwyllt, yn gwneud y ffordd hon o ledaenu *M. bovis* yn un anodd ei rheoli.

### 2.3 Anifeiliaid domestig

Mae *M. bovis* yn bathogen i'r mwyafrif o famolion, gyda ffigyrau o 2012 yn dangos bod meinweoedd wedi eu harwahanu o foch, cathod, cŵn ac alpacas wedi profi'n bositif am *M. bovis* (Harris et al., 2014). Mae anifeiliaid domestig yn gallu chwarae rôl bwysig o ran epidemioleg *M. bovis*, gan nad ydynt, fel bywyd gwyllt, yn cael eu rheoli gan ganllawiau'r Llywodraeth o ran cael eu profi'n gyson, er bod anifeiliaid fel alpacas yn gallu lledaenu'r pathogen ar raddfa uchel (Twomey et al., 2010).

Mewn arbrawf gan Mendoza et al. (2015), a oedd yn edrych ar y posibilrwydd o ddefaid yn cario *M. Bovis*, darganfuwyd trwy histopatholeg bod 83.23% o ddefaid a gafodd eu lladd wedi profi'n bositif am *M. bovis*. Gwelwyd difrodau twbercwlosis ar 97 o'r 159 (61%) o ddefaid a laddwyd, gyda phroffion croen, IFN $\gamma$  a serolegol ar y ddiadell yn dangos bod *M. bovis* wedi heintio 24.92%, 4.86% a 59.42% o'r defaid yn y drefn honno (Mendoza et al., 2015).

## 2.4 Yr amgylchedd



Ffigur 3: Tri dull posibl o drosglwyddo *M. bovis*. Dull a: yn uniongyrchol o fewn rhywogaethau (boed yn wylt neu'n ddomestig). Dull b: yn uniongyrchol rhwng rhywogaethau gwahanol. Dull c: yn anuniongyrchol naill ai o fewn neu rhwng rhywogaethau, gyda'r amgylchedd yn cynnal/meithrin *M. bovis* ac yn gronfa i'r anifail a gaiff ei heintio.

Mae adrannau 2.1–2.3 wedi sôn am fecanweithiau dulliau trosglwyddo a & b (Ffigur 3). Wrth edrych ar y dystiolaeth sydd eisoes yn bodoli, mae'r rhyngweithio uniongyrchol rhwng mamolion yn ffactor gref yn nhrosglwyddiad y pathogen.

Mae'r syniad y gallai *M. bovis* oroesi yn yr amgylchedd amaethyddol yn bodoli ers degawdau, gyda Duffield a Young (1985) yn profi bod y pathogen yn gallu goroesi am bedair wythnos mewn pridd gwlyb ac mewn ardal gysgodol (80% shade) mewn amodau labordy. Mae Young, Gormley a Wellington (2005) yn dadlau bod dulliau dadlygru pridd Duffield a Young (1985) yn golygu bod hirhoedledd *M. bovis* yn y pridd yn is na'r disgwyl. Mewn adolygiad gan Courtenay a Wellington (2008), soniwyd am y posibilrwydd uchel y gall yr amgylchedd fod yn gronfa gref o *M. bovis*, a fyddai'n egluro pam mae twbercwlosis yn glefyd sy'n dangos hirhoedledd mewn ambell i fuches ac nid mewn eraill.

Er mwyn i'r amgylchedd fod yn gronfa weithredol o *M. bovis* i wartheg a mamolion eraill, rhaid bod nifer uchel o facteria yn bresennol. Gan mai drwy amlyncu y bydd unigolyn

yn cael ei heintio, mae angen o leiaf  $10^6$  CFU o *M. bovis* i heintio ffuret trwy'r modd hwn (Cross, Labes a Mackintosh 2000), tra byddai niferoedd tipyn llai ar ffurf aerosol yn gallu heintio anifeiliaid eraill (Phillips et al., 2003).

Roedd tywydd oerach y gaeaf yn ffafrio hirhoedledd *M. bovis* yn yr amgylchedd yn Seland Newydd, er roedd Jackson, De Lisle a Morris (1995) yn nodi mai am gyfnod byr yr oedd yn aros yn bathogenaidd, ac felly nid oedd yn rhyngweithiad epidemiolegol arwyddocaol i'r clefyd. Mae tymheredd a chynffwrdd ill dau yn enghreifftiau o ffactorau sy'n chwarae rôl ym mhathogenedd *M. bovis* yn yr amgylchedd (King et al., 2017). Dengys gwaith Palmer a Whipple (2006) bod *M. bovis* yn ffafrio tymheredd oerach y gaeaf er mwyn gallu goroesi am gyfnodau hwy ar fwyd a oedd yn cael ei fwyta gan wartheg a bywyd gwyllt. Yn ôl Young, Gormley a Wellington (2005), y cyflwr delfrydol i *M. bovis* yn yr amgylchedd yw pridd llaith â thymheredd o  $37^{\circ}\text{C}$ , gyda'r gyfradd oroesi yn gostwng yn gyflym pan fydd y tymheredd o dan  $4^{\circ}\text{C}$ . Mae'n annhebygol y gellir cael pridd sydd â thymheredd mor uchel ag a geir yn awgrymiadau Young, Gormley a Wellington (2005), felly rhaid cofio mai amodau *delfrydol* yw'r rhain.

Er bod trosglwyddo uniongyrchol rhwng gwartheg a bywyd gwyllt (yn benodol moch daear) yn digwydd, mae'n ymddangos ei fod yn annhebygol o chwarae rôl enfawr, gyda 4 cyswllt uniongyrchol rhwng gwartheg a moch daear yn digwydd i bob 500,000 mesuriad gyda cholera GPS (Drewe et al., 2013). Ni wnaeth astudiaeth Woodroffe et al. (2016) weld unrhyw gyswllt uniongyrchol o gwbl yn ystod eu harbrawf hwy, gan nodi bod y colera GPS yn mesur bod lleoliad y moch daear gan amlaf o leiaf 50 metr o leoliad y gwartheg. Mae hyn yn cefnogi'r syniad bod cronfa amgylcheddol yn cysylltu gwartheg â bywyd gwyllt, a bod yr haint yn gallu heintio rhywogaethau fel hyn, yn hytrach na thrwy gyswllt uniongyrchol. Roedd gwartheg a moch daear ill dau yn ymweld yn gyson â geudai (tai bach) moch daear (Drewe et al., 2013), sydd yn ffordd effeithiol o drosglwyddo'r bacteria pe bai gwartheg neu foch daear heintiedig yn dod i gyswllt â'i gilydd. Er i'r gyfran o bacili *M. bovis* sydd yn yr amgylchedd ostwng yn yr wythnos i bythefnos cyntaf ar ôl eu hysgarthu, mae'r gyfran sydd ar ôl yn goroesi am gyfnod o 4 i 12 wythnos ar lafur, gwair, pridd a dŵr (Fine et al., 2011a). Targedu'r MTBC wnaeth dulliau moleciwlaidd Young, Gormley a Wellington (2005) gan ymdrechu i ddarganfod *M. bovis BCG* mewn microcosmau pridd, ac *M. bovis* mewn samplau pridd o'r Iwerddon. Roedd Young, Gormley a Wellington (2005) yn defnyddio primyddion i dargedu ardaloedd *mpb 64* ac *mpb 70* o enom holl facteria MTBC, cyn defnyddio PCR (adwaith cadwynol polymeras – dull moleciwlaidd o dargedu a mwyhau ardal benodol DNA organeb sydd yn cadarnhau/diddymu presenoldeb yr organeb) a oedd yn targedu'r 16S rRNA sydd ond yn bresennol mewn mycobacteria sydd yn tyfu'n araf. Dengys y gwaith ei bod yn bosibl darganfod genynnau MTBC mewn pridd hyd at 21 mis wedi iddo gael ei lygru, gydag *M. bovis BCG* yn weithredol mewn microcosmau pridd am 15 mis.

Dengys Courtenay et al. (2006) fod carthion moch daear heintiedig yn cynnwys *M. bovis*, sydd yn medru cael ei drosglwyddo i wartheg, gyda 78% o garthion moch daear ar 60 o ffermydd mewn ardaloedd TB uchel yn profi'n positif am MTBC sydd yn debygol o gynnwys DNA *M. bovis*.

Awdur	Math o samplau organig	Nifer a samplwyd	Dull canfod a'r ardal a dargedir	Nifer a oedd yn bositif	Cywerthyddion genom a oedd yn bresennol ( $g^{-1}$ )
Barbier et al., 2017	Pridd tir pori	63	qPCR – MTBC IS1561 + nested IS1561 + RD4	0 (0%)	0
Barbier et al., 2017	Carthion moch daear	21	qPCR – MTBC IS1561 + nested IS1561 + RD4	3 (14.3%)	Rhy fach i'r prawf ei feintoli.
Barbier et al., 2017	Pridd y tu allan i setiau moch daear	150	qPCR – MTBC IS1561 + nested IS1561 + RD4	11 (7.3%)	$2.54 \times 10^2 - 3.7 \times 10^4$
Barbier et al., 2017	Dŵr	67	qPCR – MTBC IS1561 + nested IS1561 + RD4	7 (10.45%)	Rhy fach i'r prawf ei feintoli.
Sweeney et al., 2007	Carthion a phridd o gwmpas geudai moch daear wedi'u heintio	11	qPCR – mpb 70 ac RD4	11 (100%)	$6.8 \times 10^4 - 5.4 \times 10^6$
Young, Gormley a Wellington, 2005	Pridd tir pori	180	qPCR mpb 70, mpb 64 a 16s rRNA	17 (9.44%)	$1 \times 10^3 - 1.5 \times 10^3$
Young, Gormley a Wellington, 2005	Pridd y tu allan i setiau moch daear	40	qPCR mpb 70, mpb 64 a 16s rRNA	34 (85%)	$2.1 \times 10^3 - 3.6 \times 10^3$

Tabl 3: *M. bovis* mewn samplau organig, a'r dulliau o'u darganfod.



Gall lefelau isel o *M. bovis* ymddangos mewn samplau organig amgylcheddol o gwmpas ardaloedd gyda gwartheg a moch daear wedi'u heintio (Barbier et al., 2017). Dengys Tabl 3 fod MTBC wedi ei ddarganfod mewn nifer o samplau amgylcheddol, gyda'r qPCR a oedd yn targedu'r ardal RD4 (sydd ond yn bresennol mewn *M. bovis*) yn cadarnhau presenoldeb/absenoldeb *M. bovis*.

Gwaith Barbier et al. (2017) yw un o'r papurau prin sydd wedi edrych ar ddŵr fel cronfa o *M. bovis*, gan lwyddo i ddarganfod DNA o'r MTBC mewn 7 allan o 67 (10.45%) sampl dŵr ffynnon. Roedd y DNA a ddarganfuwyd mewn niferoedd bach a oedd yn agos iawn at isafswm datgeliad y qPCR, felly ni fedrwyd eu meintoli (Barbier et al., 2017), ac felly mae'n annhebygol y byddai'n cyrraedd y trothwy o  $10^6$  CFU sydd ei angen i heintio ffuret hyd yn oed (Cross, Labes a Mackintosh 2000). Er nad yw gwaith King et al. (2017) mewn cyddestun amaethyddol, mae'n nodi bod *M. bovis* wedi llwyddo i aros yn bathogenaidd mewn cyflenwad dŵr, gyda chynifer â 0.073 o gywerthyddion genom (*genome equivalents*) ym mhob mililitr. Noder hefyd fod pridd yn gronfa gref o *M. bovis* i'r boblogaeth yn Ethiopia, a'i bod yn debygol bod hyn yn wir ar gyfer anifeiliaid hefyd (King et al., 2017).

Wrth ymchwilio i'r rôl y mae'r amgylchedd yn ei chwarae wrth ledaenu *M. bovis* o wartheg i geirw ym Michigan, UDA, gwelwyd bod *M. bovis* yn gallu goroesi ar fwyd y byddai ceirw a gwartheg yn ei fwyta, megis llafur, gwair, tatws a betys siwgr o dan amodau artiffisial tebyg i Michigan (Palmer a Whipple 2006). Yn benodol, gwelwyd nad oedd pelydriad heulog, cynnydd mewn tymheredd ac anwedd-drydarthiad ( $P < 0.001$ ), a glaw ( $P < 0.05$ ) yn rhwystro *M. bovis* rhag goroesi yn yr amgylchedd (Fine et al., 2011a).

Gan fod gwaith Fine et al. (2011a) wedi llwyddo i ddarganfod *M. bovis* o dan amgylchiadau amgylcheddol yn y labordy, ac wedi llwyddo i'w ddarganfod mewn samplau mewn amgylchedd go iawn, mae'n profi bod *M. bovis* yn facteria sy'n gallu goroesi'r amgylcheddau hynny. Pan fydd papurau yn sôn eu bod wedi methu a darganfod *M. bovis* yn yr amgylchedd, mae Fine et al. (2011a) yn dadlau mai methiant samplu yw'r broblem yn hytrach na diffyg *M. bovis*. Ceir hefyd achosion pan fydd technegau amhriodol wedi eu defnyddio gogyfer â darganfod *M. bovis* mewn samplau organig (Fine et al., 2011b).

Er bod silwair yn ymddangos yn gronfa ddeniadol gogyfer â *M. bovis*, pe bai'r cnwd yn cael ei heintio gan y pathogen cyn y broses silweirio, ymddengys nad oes modd canfod *M. bovis* chwe wythnos yn ddiweddarach (DEFRA, 2002). Gall hyn fod oherwydd bod y broses silweirio naill ai'n lladd *M. bovis*, neu'n ei roi mewn cyflwr cwsg, gyda'r ail sefyllfa yn awgrymu y gall silwair fod yn gronfa amgylcheddol o *M. bovis* (Grooms et al., 2019). Darganfuwyd DNA *M. bovis* mewn samplau o silwair porfa, india-corn a maglys rhuddlas, ond ni wnaeth *M. bovis* lwyddo i dyfu ar yr india-corn nac ar faglys rhuddlas (Grooms et al., 2019).

Llwyddodd Martínez-Guijosa et al. (2020) i ddarganfod DNA MTBC mewn samplau a gasglwyd o ysgwyddau gwartheg (fel sampl amgylcheddol y tu allan i'r fuwch) mewn 31% o samplau (15 allan o 48). Awgryma hyn y gall samplu amgylcheddol fod yn ffordd arall o helpu i adnabod buchesi sydd ag achosion o *M. Bovis* yn yr amgylchedd, a fyddai, mwy na thebyg, yn cynyddu'r achosion o anifeiliaid sydd â'r clefyd.

### 2.5 Rhyngweithiad gyda rhywogaethau/micro-organebau eraill

Mae hirhoedledd *M. bovis* mewn pridd di-haint (*sterile*) tipyn yn is nag *M. bovis* mewn pridd heb ei drin, sydd yn awgrymu rhyngweithiadau gyda rhywogaethau eraill yn y pridd, yn benodol micro-organebau a fyddai'n helpu i drwsio, cynnal a chadw celloedd *M. bovis* (Young, Gormley a Wellington 2005). Rheswm arall posibl am y gwahaniaeth mewn hirhoedledd *M. bovis* yn y ddau bridd oedd y byddai'r pridd di-haint yn cynnwys maetholion a thocsinau o gelloedd organebau'r pridd a fyddai wedi eu lladd, ac o ganlyniad byddai hyn yn rhoi celloedd *M. bovis* mewn cyflwr actif yn hytrach nag mewn cyflwr cwsg, sydd yn ychwanegu at eu hirhoedledd (Young, Gormley a Wellington 2005).

Mae protosoa yn organebau ungellog sydd eisoes wedi dangos eu gallu i gario heintiau eraill (Lambrecht et al., 2015). Gall protosoa (yn benodol amoebau achiliadau) amlyncu bacteria pathogenaidd, eu pecynnu mewn adeiledd pilennol i amddiffyn eu hunain, a rhyddhau'r bacteria wedyn mewn amgylchedd gwahanol (Denoncourt et al., 2014; Lambrecht et al., 2015). Mae bacteria sydd wedi'u gwarchod yn y modd hwn yn fwy tebygol o wrthsefyll heriau amgylcheddol o gymharu â bacteria rhydd (Denoncourt et al., 2014; Lambrecht et al., 2015; Taylor et al., 2003).

Mae'r rhyngweithio rhwng amoebau ac *M. bovis* yn bodoli (Taylor et al., 2003; Rhodes, De Leij a Dale 2007; Sanchez-Hidalgo et al., 2017), er i Mardare, Delahay a Dale (2013) geisio ein darbwylllo mai rôl fach iawn y mae'r amoebau yn ei chwarae yn yr hirdymor. Clustnodwyd protosoa fel cronfa amgylcheddol o *M. bovis* gan Rhodes, De Leij a Dale (2007), gan nodi bod *M. bovis* firwlaidd wedi goroesi amgystiad (*encystment*) o fewn yr amoebau. Er i *M. bovis* firwlaidd oroesi o fewn yr amoebau, nid oedd mycobacteria eraill (yn benodol rhai llai pathogenaidd megis *M. smegmatis* ac *M. bovis BCG*) yn gallu goroesi, sydd yn rhoi cydberthyniad rhwng pa mor bathogenaidd yw'r bacteria a'u gallu i oroesi mewn amoebau (Taylor et al., 2003). Mae'r cydberthyniad hwn yn cael ei gryfhau ymhellach, oherwydd llwyddodd dau bathogen arall o'r genws, *Mycobacterium leprae* a *Mycobacterium avium*, i oroesi o fewn amoebau (Cirillo et al., 1997; Steinert et al., 1998). Dengys Butler et al. (2020) bod mycobacteria pathogenaidd yn defnyddio'r un mecanweithiau fel pathogenau ag y maent i oroesi o fewn amoebau, yn benodol system secretu math VII ESX-1 sydd yn gyfrifol am lyses (*lyse*) celloedd yr organeb letyol (Conrad et al., 2017).

Wrth gloi'u trafodaeth, mae Cook, Britt a Bolster (2010) yn egluro bod *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis* (MAP) yn rhyngweithio â phrotosoa amgylcheddol sydd yn helpu hirhoedledd y bacteria o fewn bioffilmiau. Llwyddodd Whan, Grant a Rowe (2006) i ddarganfod MAP o fewn gwagolynnau *Acanthamoeba castellanii* CCAP 1501/1B, sydd yn cyd-fynd â darganfyddiadau Mura et al. (2006).

Yn ddiweddar, mae gwaith Sanchez-Hidalgo et al. (2017) wedi profi bod *M. bovis* yn gallu goroesi fel pathogenau ar ôl cael eu cludo gan amoebau, gan drosglwyddo'r clefyd i lygod. Mae'n bosibl i *M. bovis* oroesi o fewn yr amoebau (*A. polyphaga*, *A. castellanii*, *A. lenticulata* a *V. Vermiformis* yn benodol) am hyd at 60 diwrnod (Sanchez-Hidalgo et al., 2017). Pan fu'r *M. bovis* o fewn troffosöit (*trophozoite*) yn yr arbrawf, roedd yn gallu ail-gydio fel pathogen ar ôl dianc, gan lwyddo i heintio llygod yn yr achos hwn (Sanchez-

Hidalgo et al., 2017). Mae Butler et al. (2020) yn dangos bod *M. bovis* yn goroesi o fewn *Dictyostelium discoideum* (amoeba sydd yn byw mewn pridd ac yn bwyta bacteria) ac yn osgoi fflagocytosis, gan aros yn bathogenaidd. Er yn arwyddocaol ar lefel labordy, nid oes prawf o hyd fod hyn yn digwydd yn yr amgylchedd, er bod gwaith Sanchez-Hidalgo et al. (2017) a Butler et al. (2020) yn awgrymu i bob pwrpas y dylai ddigwydd.

Mae'r mwydyn (*Lumbricus terrestris*) yn medru gwasgaru *M. bovis* o garthion gwartheg heintiedig i mewn i'r amgylchedd (Barbier et al., 2016a). Yn yr arbrawf hwn, llwyddodd y mwydod i ledaenu *M. bovis* o garthion gwartheg wedi eu heintio gan *M. Bovis* drwy ei amlyncu a'i allyrru yn eu carthion eu hunain. Pan fyddai'r mwydod yn symud i amgylcheddau a oedd yn rhydd o *M. bovis*, byddai'r crynodiad yn gostwng yn raddol. Ond, dengys gwaith Barbier et al. (2016a) y byddai mwydod sydd ag *M. bovis* yn parhau i ledaenu'r bacteria am o leiaf 60 diwrnod. Mewn cyd-destun bywyd gwyllt, gall deiet moch daear gynnwys hyd at 89% o fwydod yn ystod y gwanwyn (Goszczyński et al., 2006), gyda chanfyddiadau Barbier et al. (2016a) yn awgrymu risg uchel o ledaenu *M. bovis* o fewn bywyd gwyllt. Gwelir mecanwaith eithaf tebyg rhwng mwydod a phathogenau eraill megis *Mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis* (Johne's) (Fischer et al., 2003) ac *E. coli O157* (Williams et al., 2006).

### 3 Y dyfodol

Yn sgil y pwysau ychwanegol ar arian cyhoeddus mewn perthynas â'r cysylltiad rhwng twbercwlosis a moch daear, mae'r angen i lywodraethau sicrhau strategaeth effeithiol ar gyfer rheoli'r clefyd yn fwy nag erioed. Bydd masnachu â gwledydd eraill yn her yn y dyfodol agos, oherwydd bod y rheolau'n mynnu bod yn rhaid i bob gwlad fod â mynychder twbercwlosis o lai na 0.1% am chwe blynedd yn olynol er mwyn cael cydnabyddiaeth fel gwlad sydd yn glir o dwbercwlosis (Llywodraeth Cymru 2019c). Bydd *Brexit* yn ei gwneud yn anochel y byddwn yn gorfod llunio cytundebau masnachu newydd.

#### Deddfwriaeth

Yn adroddiad Godfray et al. (2018) o bolisiâu TB Lloegr, nodwyd bod angen i ffermwyr *berchnogi* mwy o reolaeth dros y clefyd. Golyga hyn eu bod am annog ffermwyr i edrych ar arferion y gallent hwythau eu rhoi ar waith, yn hytrach na disgwyl i'r llywodraeth ddifa'r clefyd. Ar un llaw, mae hyn yn bolisi a allai weithio i annog ffermwyr i strwythuro eu busnesau mewn ffordd well i leihau'r risg o dwbercwlosis ond, ar y llaw arall, rhaid cofio bod nenfwd eithaf isel o ran perchnogi rheolaeth dros glefyd hysbysadwy oherwydd y cyfyngiadau a ddaw o du'r llywodraeth; byddai mynd yn groes i'r cyfyngiadau yn dor cyfraith.

#### Profion

Yn sgil yr holl dechnegau microbiolog sy'n bodoli ar hyn o bryd, mae'n debygol y bydd y dulliau ar gyfer darparu diagnosis o'r clefyd yn newid yn y dyfodol agos. Mae'r ffaith bod

DNA nifer o'r teulu MTBC wedi cael ei ddilyniannu yn ein galluogi i ddylunio profion sy'n gallu targedu *M. bovis* yn benodol a hyd yn oed wahaniaethu rhwng gwahanol straeniau ohono, os mai targedu'r bacteria yw'r nod. Byddai dylunio prawf sy'n gallu darganfod presenoldeb/absenoldeb *M. bovis* mewn samplau amgylcheddol mewn amser byr (h.y. gallu rhoi ateb o fewn diwrnod i'r ffermwr) yn newid y rheolaeth o dwbercwlosis gan alluogi iddynt osgoi pori eu stoc mewn ardaloedd risg uchel, a chanolbwyntio'r diheintio ar yr ardaloedd â chrynodiad uchel o'r bacteria. Mae'r broses o bori strategol yn unol â risg heintio yn arfer sy'n bodoli eisoes i reoli parasitiaid megis llyngyren yr afu (*liver fluke*) (Selemetas et al., 2015).

Yn ogystal â phroffion gogyfer â deunydd amgylcheddol, byddai profion mwy sensitif ar gyfer anifeiliaid (yn enwedig gwartheg) yn gallu profi stoc yn gywir gan leihau nifer yr anifeiliaid heintiedig sydd yn aros o fewn buches a lledaenu'r bacteria i'r amgylchedd ac i anifeiliaid eraill. Mae'n broses hir cael prawf wedi ei ddilysu yn llawn, ond mae'r prawf Actiphage (Swift, Convery a Rees 2016), math newydd o ELISA (Sahli et al., 2018) a phrawf newydd i wahaniaethu rhwng gwartheg wedi eu heintio a rhai wedi'u brechu (Srinivasan et al., 2019) i gyd yn esiamplau o broffion sydd wedi dangos y potensial mewn amodau labordy i gynyddu dibynadwyedd profion twbercwlosis, ond nad ydynt wedi'u hawdurdodi gan yr OIE hyd yma. Yn ddiweddar, cafodd prawf Enferplex (Whelan et al., 2010) ei ddilysu gan yr OIE ar gyfer ei ddefnyddio ar y cyd â'r prawf croen. Yn ogystal â chynnig profion mwy gwydn, gellir defnyddio nifer o'r profion uchod fel prawf i wahaniaethu rhwng gwartheg wedi eu heintio a rhai wedi eu brechu, a fyddai'n gam sylweddol tuag at reoli'r clefyd ar ffermydd.

## TB amgylcheddol

Byddai darganfod nifer sylweddol o DNA *M. bovis* mewn samplau amgylcheddol yn sefyllfa a fyddai'n newid y ffordd o reoli'r clefyd. Er y byddai'n nodi cronfa arall ar gyfer lledaenu'r pathogen, mae'n gronfa y gellir ei rheoli mewn nifer o achosion trwy ddiheintio adeiladau rhwng grwpiau, rheoli stoc yn strategol (h.y. gosod ffens o amgylch ardaloedd risg uchel) a chynyddu bioddiogelwch ar ffermydd yn gyffredinol.

Mae bwlch sylweddol yn yr ymchwil wrth edrych ar y rhyngweithiadau sydd yn digwydd o fewn y gymuned ficrobaidd pan fydd *M. bovis* yn bresennol. Mae'n bosibl y gall rheolaeth o ficro-organebau eraill greu amgylchedd llai goroesadwy ar gyfer *M. bovis*, ac yn sgil hynny, greu ffyrdd amgen o reoli micro-organebau eraill er budd rheolaeth *M. bovis*. Pe darganfyddid bod TB amgylcheddol yn gronfa sylweddol o TB buchol, y cam nesaf fyddai trosglwyddo'r wybodaeth i ffermwyr, er mwyn newid agweddau a dulliau rheoli tuag at fioddiogelwch a sut y maent yn trin pathogenau amgylcheddol ar eu ffermydd.

## Llyfryddiaeth

- APHA (2018), *Suspicion of Disease in a Carcase* <[http://apha.defra.gov.uk/External\\_OV\\_Instructions/TB\\_Instructions/Passive\\_Surveillance/Slaughterhouse\\_Cases\\_and\\_Knackers\\_Yards.html](http://apha.defra.gov.uk/External_OV_Instructions/TB_Instructions/Passive_Surveillance/Slaughterhouse_Cases_and_Knackers_Yards.html)> [Cyrchwyd: 5 Hydref 2018].
- Balseiro, A. et al. (2020), 'Protective Effect of Oral BCG and Inactivated Mycobacterium bovis Vaccines in European Badgers (*Meles meles*) Experimentally Infected With M. Bovis', *Frontiers in Veterinary Science*, 7, Erthygl 41.
- Barbier, E. et al. (2016a), 'Rapid dissemination of Mycobacterium bovis from cattle dung to soil by the earthworm Lumbricus terrestris', *Veterinary Microbiology*, 186, 1–7.
- Barbier, E., et al. (2016b), 'First molecular detection of Mycobacterium bovis in environmental samples from a French region with endemic bovine tuberculosis', *Journal of Applied Microbiology*, 120 (5), 1193–1207.
- Barbier, E. et al. (2017), 'Impact of temperature and soil type on Mycobacterium bovis survival in the environment', *PLOS ONE*, 12 (4), e0176315.
- BBC (2016), 'Bovine TB: Prof Christianne Glossop on badger cull option' <<https://www.bbc.co.uk/news/av/uk-wales-36844571/bovine-tb-prof-christianne-glossop-on-badger-cull-option>> [Cyrchwyd: 13 Gorffennaf 2020].
- BBC Cymru Fyw (2019), *TB Sir Gaerfyrddin: Dim achos gweithredol ond 76 cudd* <<https://www.bbc.co.uk/cymrufyw/48756806>> [Cyrchwyd: 27 Mehefin 2019].
- Bilal, S. et al. (2010), 'Human bovine tuberculosis – remains in the differential', *Journal of Medical Microbiology*, 59, 1379–82.
- Brennan, P. J. a Nikaido, H. (1995), 'The Envelope of Mycobacteria', *Annual Review of Biochemistry*, 64, 29–63.
- Brewer, T. F. a Colditz, G. A. (1995), 'Relationship Between Bacille Calmette-Guerin (BCG) Strains and the Efficacy of BCG Vaccine in the Prevention of Tuberculosis', *Clinical Infectious Diseases*, 20 (1), 126–35.
- Buddle, B. M. et al. (2002), 'Influence of sensitisation to environmental mycobacteria on subsequent vaccination against bovine tuberculosis', *Vaccine*, 20 (7–8), 1126–1133.
- Buddle, B. M. et al. (2011), 'Low oral BCG doses fail to protect cattle against an experimental challenge with Mycobacterium bovis', *Tuberculosis*, 91 (5), 400–5.
- Butler, R. E. et al. (2020), 'Mycobacterium bovis uses the ESX-1 Type VII secretion system to escape predation by the soil-dwelling amoeba Dictyostelium discoideum', *The ISME Journal*, 14, 919–30.
- Cassidy, J. P. et al. (1999). 'Lesions in cattle exposed to Mycobacterium bovis-inoculated calves', *Journal of Comparative Pathology*, 21 (4), 321–37.
- Chambers, M. A. et al. (2011), 'Bacillus Calmette-Guérin vaccination reduces the severity and progression of tuberculosis in badgers', *Proceedings of The Royal Society of Biological Sciences*, 278 (1713), 1913–20.
- Cirillo, J. D. et al. (1997), 'Interaction of Mycobacterium avium with environmental amoebae enhances virulence', *Infection and Immunity*, 65 (9), 3759–67.

- Comstock, G. W. (1982), 'Epidemiology of tuberculosis', *American Review of Respiratory Disease*, 125, 8–15.
- Conrad, W. H. et al. (2017), 'Mycobacterial ESX-1 secretion system mediates host cell lysis through bacterium contact-dependent gross membrane disruptions', *PNAS*, 114 (6), 1371–6.
- Cook, K. L., Britt, J. S. a Bolster, C. H. (2010), 'Survival of *Mycobacterium avium* subsp. Paratuberculosis in biofilms on livestock watering trough materials', *Veterinary Microbiology*, 141 (1–2), 103–9.
- Corner, L. A. L. et al. (2010), 'Oral Vaccination of Badgers (*Meles Meles*) With BCG and Protective Immunity Against Endobronchial Challenge With *Mycobacterium Bovis*', *Vaccine*, 28 (38), 6265–72.
- Courtenay, O. (2006), 'Is *Mycobacterium bovis* in the environment important for the persistence of bovine tuberculosis?', *Biology Letters*, 2, 460–2.
- Courtenay, O. a Wellington, E. M. H. (2008). 'Mycobacterium bovis in the environment: towards our understanding of its biology', *BCVA Cattle Practice*, 16 (2), 122–6.
- Cross, M. L., Labes, R. E. a Mackintosh, C. G. (2000), 'Oral infection of ferrets with virulent *Mycobacterium bovis* or *Mycobacterium avium*: Susceptibility, Pathogenesis and Immune Response', *Journal of Comparative Pathology*, 123 (1), 15–21.
- de la Rua-Domenech, R. (2006), 'Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: Incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis', *Tuberculosis*, 86 (2), 77–109.
- DEFRA (2002), 'Survival of *Mycobacterium bovis* in laboratory made silage', *DEFRA Scientific Projects*, SE3022.
- DEFRA (2020), *Tuberculosis (TB) in cattle in Great Britain* <<https://www.gov.uk/government/statistical-data-sets/tuberculosis-tb-in-cattle-in-great-britain>> [Cyrchwyd: 29 Mehefin 2020].
- Denoncourt, A. M., Paquet, V. E. a Charette. S. J. (2014), 'Potential role of bacteria packaging by protozoa in the persistence and transmission of pathogenic bacteria', *Frontiers in Microbiology*, 5, Erthygl 240.
- Donnelly, C. A. et al. (2007), 'Impacts of widespread badger culling on cattle tuberculosis: concluding analyses from a large-scale field trial', *International Journal of Infectious Diseases*, 11 (4), 300–8.
- Drewe, J. A. et al. (2013), 'Patterns of direct and indirect contact between cattle and badgers naturally infected with tuberculosis', *Epidemiology & Infection*, 141 (7), 1467–75.
- Duffield, B. J. a Young, D. A. (1985), 'Survival of *Mycobacterium bovis* in defined environmental conditions', *Veterinary Microbiology*, 10 (2), 193–7.
- Erequat, S. et al. (2013), 'First-Time Detection of *Mycobacterium bovis* in Livestock Tissues and Milk in the West Bank, Palestinian Territories', *PLoS*, 7 (9), e2417.
- Falkinham, J. O. (2009), 'The biology of environmental mycobacteria', *Environmental Microbiology Reports*, 1 (6), 477–87.



- Fine, A. E. et al. (2011a), 'A Study of the Persistence of *Mycobacterium bovis* in the Environment under Natural Weather Conditions in Michigan, USA', *Veterinary Medicine International*, 26 (4), Erthygl 765430.
- Fine, A. E. et al. (2011b), 'An Effort to Isolate *Mycobacterium bovis* from Environmental Substrates during Investigations of Bovine Tuberculosis Transmission Sites (Cattle Farms and Wildlife Areas) in Michigan, USA', *International Scholarly Research Notices*, 1–11.
- Fischer, O. A. et al. (2003), 'Earthworms (Oligochaeta, Lumbricidae) and mycobacteria', *Veterinary Microbiology*, 91 (4), 325–38.
- Fitzgerald, S. D. et al. (2016), 'Herd outbreak of bovine tuberculosis illustrates that route of infection correlates with anatomic distribution of lesions in cattle and cats', *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28 (2), 129–32.
- Gannon, B. W., Hayes, C. M. a Roe, J. M. (2007), 'Survival Rate of Airborne *Mycobacterium Bovis*', *Research in Veterinary Science*, 82 (2), 169–72.
- Godfray, C. et al. (2018), 'Bovine TB Strategy Review' (Llundain: DEFRA).
- Goodchild, A. V. a Clifton-Hadley, R. S. (2001), 'Cattle-to-cattle transmission of *Mycobacterium bovis*', *Tuberculosis*, 81 (1–2), 23–41.
- Goodchild, A. V. et al. (2015), 'Specificity of the comparative skin test for bovine tuberculosis in Great Britain', *The Veterinary Record*, 117 (10), Erthygl 258.
- Goszczyński, J., Jedrzejewska, B. a Jedrzejewski, W. (2006), 'Diet composition of badgers (*Meles meles*) in a pristine forest and rural habitats of Poland compared to other European populations', *Journal of Zoology*, 250 (4), 495–505.
- Gov.uk (2018), *Bovine TB: How to spot and report the disease* <<https://www.gov.uk/guidance/bovine-tb>> [Cyrchwyd: 9 Hydref 2018].
- Grooms, D. L. et al. (2019), 'Survival of *Mycobacterium bovis* during forage ensiling', *American Journal of Veterinary Research*, 80 (1), 87–94.
- Harris, K. A. et al. (2014), 'Bovine TB infection status in cattle in Great Britain in 2012', *Veterinary Record*, 174 (24), 600–4.
- House of Commons (2017), 'Bovine TB statistics in Great Britain', *Papur briffio*, 6081, 16 Hydref 2017.
- Hruska, K. a Kaevska, M. (2012), 'Mycobacteria in water, soil, plants and air: a review', *Veterinarni Medicina*, 57 (12), 623–79.
- HSE (2018), *Report of the Advisory Committee on Dangerous Pathogens, Mycobacterium bovis Working Group* <<http://www.hse.gov.uk/biosafety/gmo/acdp-m-bovis-working-group.pdf>> [Cyrchwyd: 8 Hydref 2018].
- Hutchings, S. A., Hancox, N. a Livingstone, P. G. (2013), 'A strategic approach to eradication of bovine TB from wildlife in New Zealand', *Transboundary and Emerging Diseases*, 60 (1), 85–91.
- ICMR (1999), 'Fifteen-year follow-up of trial of BCG vaccines in south India for tuberculosis prevention', *Indian Journal of Medical Research*, 110, 56–69.
- Jackson, R., De Lisle, G. W. a Morris, R. S. (1995), 'A study of the environmental survival

- of *Mycobacterium bovis* on a farm in New Zealand', *New Zealand Veterinary Journal*, 43 (7), 346–52.
- Jibril, A. H. et al. (2015), 'Survival of *Mycobacterium bovis* Following Heat Treatment of Infected Tissues Obtained from Slaughtered Cattle in Sokoto Metropolitan Abattoir, Nigeria', *Journal of Bacteriology and Parasitology*, 6 (6), 2–4.
- Johnston, W. T. et al. (2011), 'Herd-level risk factors of bovine tuberculosis in England and Wales after the 2001 foot-and-mouth disease epidemic', *International Journal of Infectious Diseases*, 15 (12), 833–40.
- Karolemeas, K. et al. (2012), 'Estimation of the Relative Sensitivity of the Comparative Tuberculin Skin Test in Tuberculous Cattle Herds Subjected to Depopulation', *PLOS ONE*, 7 (8), Erthygl e43217.
- Gormley, E. et al. (2006), 'Diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle by use of the gamma-interferon (Bovigam®) assay', *Veterinary Microbiology*, 112 (2–4), 171–9.
- Kennedy, A. E. et al. (2014), 'The Single Intradermal Cervical Comparative Test Interferes with John's Disease ELISA Diagnostics', *Frontiers in Immunology*, 5, Erthygl 564.
- King, H. C. et al. (2015), 'The variability and seasonality of the environmental reservoir of *mycobacterium bovis* shed by wild European badgers', *Scientific Reports*, 5, Erthygl 12318.
- King, H. C. et al. (2017), 'Environmental reservoirs of pathogenic mycobacteria across the Ethiopian biogeographical landscape', *PLOS ONE*, 12 (3), Erthygl e0173811.
- Krebs, J. R. et al. (1997), *Bovine Tuberculosis in Cattle and Badgers – An Independent Scientific Review*. (Llundain: MAFF Publications).
- Lab Manager (2019), *Biosafety Levels 1, 2, 3 & 4* <<https://www.labmanager.com/lab-health-and-safety/2010/12/biosafety-levels-1-2-3-4#.XG6qc1z7Suk>> [Cyrchwyd: 21 Chwefror 2019].
- Lambrecht, E. et al. (2015), 'Protozoan Cysts Act as a Survival Niche and Protective Shelter for Foodborne Pathogenic Bacteria', *Applied and Environmental Microbiology*, 81 (16), 5604–12.
- Lopez-Valencia, G. et al. (2010), 'Field evaluation of the protective efficacy of *Mycobacterium bovis* BCG vaccine against bovine tuberculosis', *Research in Veterinary Science*, 88 (1), 44–9.
- Llywodraeth Cymru (2017), *Cynllun Cyflawni Rhaglen Dileu TB Cymru* (Caerdydd: Llywodraeth Cymru).
- Llywodraeth Cymru (2019a), *Rhaglen dileu TB mewn Gwartheg* <<https://gov.wales/topics/environmentcountryside/ahw/disease/bovinetuberculosis/bovinetberadication/?lang=cy>> [Cyrchwyd: 10 January 2019].
- Llywodraeth Cymru (2019b), *Biosecurity* <<https://beta.gov.wales/biosecurity>> [Cyrchwyd: 18 Ionawr 2019].
- Llywodraeth Cymru (2019c), *Targedau dileu TB yng Nghymru* <<https://llyw.cymru/sites/default/files/publications/2018-02/tb-gwartheg-targedau-dileu.pdf>> [Cyrchwyd: 12 Awst 2019].

- Llywodraeth Cymru (2020), *TB Eradication Programme Frequently Asked Questions and Answers* <<https://gov.wales/sites/default/files/publications/2019-04/bovine-tb-eradication-programme-guidance-for-farmers.pdf>> [Cyrchwyd: 29 Mehefin 2020].
- Mandal, S. L. et al. (2011), 'Investigating transmission of *Mycobacterium bovis* in the United Kingdom in 2005 to 2008', *Journal of Clinical Microbiology*, 49, 1943–50.
- Martínez-Guijosa, J. et al. (2020), 'Environmental DNA: A promising factor for tuberculosis risk assessment in multi-host settings', *PLOS ONE*, 5 (5), e0233837.
- Mendoza, M. M. et al. (2015), 'Sheep as a Potential Source of Bovine TB: Epidemiology, Pathology and Evaluation of Diagnostic Techniques', *Transboundary and Emerging Diseases*, 63 (6), 635–46.
- Mathews, F. et al. (2006), 'Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in British farmland wildlife: the importance to agriculture', *Proceedings of The Royal Society of Biological Sciences*, 273, 357–65.
- Mardare, C., Delahay, R. J. a Dale, J. W. (2013), 'Environmental amoebae do not support the long-term survival of virulent mycobacteria', *Journal of Applied Microbiology*, 114, 1388–94.
- Muirhead, R. H., Gallagher, J. a Burns, K. J. (1974), 'Tuberculosis in wild badgers in Gloucestershire: epidemiology', *Veterinary Record*, 95 (24), 552–5.
- Mura, M. et al. (2006), 'Replication and long-term persistence of bovine and human strains of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis within *Acanthamoeba polyphaga*', *Applied Environmental Microbiology*, 72 (1), 854–9.
- Palmer, M. V., Walters, W. R. a Whipple, D. L. (2002), 'Aerosol delivery of virulent *Mycobacterium bovis* to cattle', *Tuberculosis*, 82 (6), 275–82.
- Palmer, M. V a Whipple, D. L. (2006), 'Survival of *Mycobacterium bovis* on Feedstuffs Commonly Used as Supplemental Feed for White-tailed Deer (*Odocoileus virginianus*)', *Journal of Wildlife Diseases*, 42 (4), 853–8.
- Pérez-Lago, L., Navarro, Y. a García-de-Viedma, D. (2014), 'Current knowledge and pending challenges in zoonosis caused by *Mycobacterium bovis*: A review', *Research in Veterinary Science*, 97, 94–100.
- Phillips, C. J. C. et al. (2003), 'The transmission of *Mycobacterium bovis* infection to cattle', *Research in Veterinary Science*, 74 (1), 1–15.
- Porphyre, T., McKenzie, J. a Stevenson, M. A. (2011), 'Contact patterns as a risk factor for bovine tuberculosis infection in a free-living adult brushtail possum *Trichosurus vulpecula* population', *Preventative Veterinary Medicine*, 100 (3–4), 221–30.
- Prifysgol Stanford (2018), *Biosafety Levels for Biological Agents* <<https://ehs.stanford.edu/reference/biosafety-levels-biological-agents>> [Cyrchwyd: 11 Hydref 2018].
- Public Health England (2014), *Bovine tuberculosis: Guidance on management of the public health consequences of tuberculosis in cattle and other animals (England)* (Llundain: Public Health England).
- Public Health England (2018), *Mycobacterium bovis surveillance data tables, UK, 1999–2017*

- <https://www.gov.uk/government/publications/mycobacterium-bovis-mbovis-tuberculosis-annual-data> [Cyrchwyd: 3 Hydref 2018].
- Reynolds, D. (2006), 'A review of tuberculosis science and policy in Great Britain', *Veterinary Microbiology*, 112 (2–4), 119–26.
- Rhodes, S. G., De Leij, F. A. A. M. a Dale, J. W. (2007), 'Protozoa as an environmental reservoir of bovine tuberculosis', *Trends in Microbiology*, 15 (8), 338–40.
- Rizzi, C. et al. (2012), 'Vaccination with a BCG Strain Overexpressing Ag85B Protects Cattle against Mycobacterium bovis Challenge', *PLOSOne*, 7 (12), Erthygl e51396.
- Robinson, P., Morris, D. a Antic, R. (1988), 'Mycobacterium bovis as an occupational hazard in abattoir workers', *Australian and New Zealand Journal of Medicine*, 18 (5), 701–3.
- Robinson, P. A. et al. (2012), 'BCG vaccination against tuberculosis in European badgers (Meles meles): A review', *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35 (4), 277–87.
- Robinson, P. A. (2019), 'Performativity and a microbe: Exploring Mycobacterium bovis and the political ecologies of bovine tuberculosis', *Biosocieties*, 14, 179–204.
- Sahli, H. et al. (2018), 'An advanced intelligent ELISA test for bovine tuberculosis diagnosis', *Biomedical Signal Processing and Control*, 1 (46), 59–66.
- Sanchez-Hidalgo, A. et al. (2017), 'Mycobacterium bovis hosted by free-living-amoebae permits their long-term persistence survival outside of host mammalian cells and remain capable of transmitting disease to mice', *Environmental Microbiology*, 19 (10), 4010–21.
- Schroeder, P. et al. (2020), 'Temporal and spatial Mycobacterium bovis prevalence patterns as evidenced in the All Wales Badgers Found Dead (AWBFD) survey of infection 2014–2016', *Scientific Reports*, 10, Erthygl 15214.
- Selemetas, N. et al. (2015), 'The effects of farm management practices on liver fluke prevalence and the current internal parasite control measures employed on Irish dairy farm', *Veterinary Parasitology*, 207 (3–4), 228–40.
- Serrano, M. et al. (2018), 'Different lesion distribution in calves orally and intratracheally challenged with Mycobacterium bovis: implications for diagnosis', *Veterinary Research*, 49, Erthygl 74.
- Sinha, P. et al. (2016), 'Differentiation of Mycobacterium tuberculosis complex from non-tubercular mycobacteria by nested multiplex PCR targeting IS6110, MTP40 and 32kD alpha antigen encoding gene fragments', *BMC Infectious Diseases*, 16, Erthygl 123.
- Srinivasan, S. et al. (2019), 'A defined antigen skin test for the diagnosis of bovine tuberculosis', *Science Advances*, 5 (7), Erthygl eaax4899.
- Stedman, A. et al. (2018), 'Lactic acid Bacteria isolated from European badgers (Meles meles) reduce the viability and survival of Bacillus Calmette-Guerin (BCG) vaccine and influence the immune response to BCG in a human macrophage model', *BMC Microbiology*, 18, Erthygl 74.
- Steinert, M. et al. (1998), 'Mycobacterium avium bacilli grow saprozoically in coculture with Acanthamoeba', *Applied Environmental Microbiology*, 64 (6), 2256–61.

- Sweeney, F. P. et al. (2007), 'Environmental Monitoring of Mycobacterium bovis in Badger Feces and Badger Sett Soil by Real-Time PCR, as Confirmed by Immunofluorescence, Immunocapture, and Cultivation', *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (22), 7471–3.
- Swift, B. M. C., Convery, T. W. a Rees, C. E. D. (2016), 'Evidence of Mycobacterium tuberculosis complex bacteraemia in intradermal skin test positive cattle detected using phage-RPA', *Virulence*, 7 (7), 779–88.
- Tamada, Y. et al. (2012), 'Diagnosis of active tuberculosis using MPB64, a specific antigen of Mycobacterium bovis', *Microbiology and Immunology*, 56 (11), 740–7.
- Taylor, S. J. et al. (2003), 'Infection of Acanthamoeba castellanii with Mycobacterium bovis and M. bovis BCG and Survival of M. bovis within the Amoebae', *Applied and Environmental Microbiology*, 69 (7), 4316–19.
- TB Free England (2018), *FAQs about bovine TB in cattle and badger culling* <<http://www.tbfreeengland.co.uk/faqs/>> [Cyrchwyd: 5 Hydref 2018].
- TB Stats Dashboard (2020), *Bovine TB stats* <[https://btb-statistics.shinyapps.io/dashboard\\_v1/](https://btb-statistics.shinyapps.io/dashboard_v1/)> [Cyrchwyd: 29 Mehefin 2020].
- Twomey, D. F. et al. (2010), 'Cutaneous TB caused by Mycobacterium bovis in a veterinary surgeon following exposure to a tuberculous alpaca (Vicugna pacos)', *Veterinary Record*, 166, 175–7.
- Waters, W. R. et al. (2006), 'Early Antibody Responses to Experimental Mycobacterium bovis Infection of Cattle', *Clinical and Vaccine Immunology*, 13 (6), 648–54.
- Whan, L., Grant, I. R. a Rowe, M. T. (2006), 'Interaction between Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis and environmental protozoa', *BMC Microbiology*, 6, Erthygl 63.
- Whelan, C. et al. (2010), 'Performance of the Enferplex TB Assay with Cattle in Great Britain and Assessment of Its Suitability as a Test to Distinguish Infected and Vaccinated Animals', *Clinical and Vaccine Immunology*, 17 (5), 813–17.
- Whipple, D. L., Bolin, C. A. a Miller, J. M. (1996), 'Distribution of Lesions in Cattle Infected with Mycobacterium Bovis', *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 8 (3), 351–4.
- World Health Organisation (WHO) (2012), *Global tuberculosis control* (Genefa, y Swistir: WHO).
- World Health Organisation (WHO) (2019), *Treatment and care* <<https://www.who.int/tb/areas-of-work/zoonotic-tb/en/>> [Cyrchwyd: 26 Mehefin 2019].
- Williams, A. P. et al. (2006), 'Earthworms as vectors of Escherichia coli O157:H7 in soil and vermicomposts', *Microbiology Ecology*, 58 (1), 54–64.
- Woodroffe, R. et al. (2016), 'Badgers prefer cattle pasture but avoid cattle: implications for bovine tuberculosis control', *Ecology Letters*, 19, 1201–8.
- Young, J. S., Gormley, E. a Wellington, E. M. H. (2005), 'Molecular Detection of Mycobacterium bovis and Mycobacterium bovis BCG (Pasteur) in Soil', *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (4), 1946–52.
- Zarden, C. F. O. et al. (2013), 'Mycobacterium bovis detection from milk of negative skin test cows', *Veterinary Record*, 172 (5), 130.