

EDWARD MALINOWSKI, ANDRZEJ OWCZAREWICZ, JANUSZ NOWAKOWSKI

Kliniczny przebieg mastitis u krów zakażonych doświadczalnie *Mycoplasma bovis*

Z Kliniki Położniczej i Zakładu Anatomii Patologicznej Instytutu Chorób Niezakaźnych
Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie
Z Puławskich Zakładów Przemysłu Bioweterynaryjnego

U pewnego odsetka krów ze stanami zapalnymi gruczołu mlekowego rutynowymi badaniami mikrobiologicznymi nie udaje się wykazać czynnika etiologicznego, w związku z czym tego typu mastitis klasyfikuje się jako bezbakteryjne podrażnienie lub zapalenie aseptyczne (17, 18, 23, 24). Przyczyną takich zapaleń, jak uważają niektórzy autorzy (15, 24), w dużej części mogą być drobnoustroje z rodzaju *Mycoplasma*. Z wydzielin zapalnej gruczołu mlekowego krów izolowano szereg gatunków mykoplazm, wśród nich *Mycoplasma bovis* (1, 4, 5, 6, 7, 10, 13, 21, 25). Stwierdzono, iż mykoplazmy izolowane z układu płciowego buhajów, w tym *M. bovis*, przeżywiają temperaturę ciekłego azotu (26) i cechują się pewnym tropizmem do wymienia krów (16). Do zakażeń gruczołu mlekowego tymi drobnoustrojami dochodzi głównie na drodze hematogennej (22). Powyższe informacje oraz fakt stwierdzenia w stosunkowo wysokim procencie zakażenia mykoplazmami nasienia buhajów w Polsce (3, 20, 26) były motywem do podjęcia badań doświadczalnych nad klinicznym przebiegiem mastitis na tle *Mycoplasma bovis*.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 10 krowach rasy ncb, o masie ciała 440–510 kg i dziennej wydajności mlecznej w granicach 7–11 l. Krowy były klinicznie zdrowe i nie wykazywały zmian w wymieniu i mleku. W czasie prowadzenia doświadczeń zwierzęta przebywały w Klinice i były jednako żywione. Mleko zdajano ręcznie, 2 razy dziennie, oddzielnie z każdej ćwiartki i mierzono jego ilość. Dwukrotnie w ciągu dnia (rano i wieczorem) przeprowadzono także badanie ogólne zwierząt oraz szczegółowe wymienia (oglądanie, omacywanie) i mleka (ocena makroskopowa na przedzajacu, TOK, obliczenie komórek somatycznych met. Prescott-Breeda, kontrola bakteriologiczna i mykologiczna).

Zakażenia krów dokonywano bezpośrednio po rannym zdojeniu, wprowadzając strzykawką bez igły

przez kanał strzykowy do zatok jednej lub dwu ćwiartek prawej połowy wymienia 2 ml 48 godzinnej hodowli bulionowej szczepu *Mycoplasma bovis* o mianie 10^9 c.f.u./ml. Łącznie zakażono 16 ćwiartek. Użyty szczep został wyizolowany z nasienia buhaja z jednej ze SH i UZ. Do lewych tylnych ćwiartek wymienia krów doświadczalnych wprowadzono po 2 ml sterylnego bulionu. Spośród 10 użytych do doświadczeń krów jedną poddano ubojowi po 7 dniach, dwie po 10, jedną po 14, jedną po 21, jedną po 28 oraz 4 po 35 dniach od zakażenia. Z gruczołów mlekowych ubitych krów pobrano materiał do badań histologicznych. Skrawki histologiczne sporządzone metodą parafinową barwiono hematoksyliną i eozyną.

Wyniki i omówienie

W wyniku dozatokowego wprowadzenia kultury *M. bovis* u wszystkich 10 krów doświadczalnych w 16 zakażonych ćwiartkach wystąpiło zapalenie gruczołu mlekowego. Dynamikę zmian w doświadczalnych ćwiartkach i wydzielinie z tych ćwiartek przedstawiono w tab. 1. Jak wynika z danych tabeli, już po 12 godzinach od zakażenia stwierdzono wzrost liczby komórek somatycznych w mleku. Po 24 godzinach wystąpiły nieznaczne zmiany w makroskopowym wyglądzie wydzieliny, która stała się lekko wodnista, a po upływie kolejnych 12 godzin pojawiły się w niej strzępki ściętej kazeiny. Nastąpił także dalszy wzrost liczby komórek oraz spadła ilość wydzielanego mleka. Pomiedzy 3 a 4 dniem po zakażeniu wydzielina przybrała szare zabarwienie z domieszką strzępków i kłaczków i stała się ciągliwa. Ilość wydzieliny obniżyła się prawie o połowę. W tym też dopiero czasie zauważono nieznaczny obrzęk doświadczalnych ćwiartek, który następnie nasilił się. Pomiedzy 5 a 7 dniem po zakażeniu doświadczalne ćwiartki były wyraźnie powiększone, twarde i lekko zaczerwienione. Zwracała przy tym uwagę stosunkowo mała bolesność. Wydzielina w tym czasie miała charakter śluzowo-ropny lub ropny, a ilość jej u poszczególnych krów spadła nawet o 80%. W

Tab. 1. Zmiany w doświadczalnych ćwiartkach wymienia krów po zakażeniu *Mycoplasma bovis* (wartości średnie).

Test	Czas po zakażeniu																
	godziny										dni						
	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108	5	6	7	10	21	28	35
Ocena kliniczna gruczołu	N	N	N	N	N	N	N	N	Ob	Ob	Ob	Ob	Ob	Wz	Wz	Wz	Wz
Makroskopowa ocena wydzieliny	n	n	lw	lw.s	lw.s	lw.k	lw.k	sz.sł	sz.sł	sz.sł	sz.sł	sz.sł	sz.sł	sz.sł	sz.sł	sz.sł	sz.sł
Terenowy odczyn komórkowy	-	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/	+/
Liczba komórek w tys./ml mleka	225	1008	2159	3044	5375	7400	21743	38062	35375	32125	35125	27512	21250	8320	5736	883	666
Wydajność mleczna w ml	448	1125	780	787	730	728	660	670	664	522	430	485	504	633	625	628	652

Objaśnienia: N — normalna tkanka gruczołowa, Ob — obrzęk, Wz — wyraźne zwłóknienie, n — mleko normalne, lw — mleko lekko wodniste, s — strzępki, k — kłaczkki, sz — odcień szary, śl — śluz, ż — odcień żółtawy, rp — ropa, — = wynik ujemny, ± = wynik wątpliwy, ++ — wynik dodatni, +++ — wynik silnie dodatni, z — odczyn zasadowy, zz — odczyn silnie zasadowy.

kolejnych dniach ustąpiło zaczerwienie oraz obrzęk, pozostało natomiast wyraźne zwłóknienie doświadczalnych ćwiartek. Miąższ gruczołu przypominał konsystencję gumy. Po 21 dniach od zakażenia wydzielina miała charakter mleka normalnego, chociaż proces zapalny toczył się dalej, o czym świadczyła podwyższona liczba komórek somatycznych. Dopiero po upływie 35 dni od zakażenia liczba komórek somatycznych w 1 ml mleka obniżyła się do granic fizjologicznych. Pozostałością przebytego *mastitis* na tle *Mycoplasma bovigentialium* była wyraźnie tęga konsystencja doświadczalnych ćwiartek oraz zmniejszona o około 50% ich wydzielniczość.

Prowadzona w przebiegu badań kontrola bakteriologiczna i mykologiczna wydzielin z zakażonych *M. bovigentialium* ćwiartek, jak i pozostałych ćwiartek wymienia nie wykazała obecności obcych bakterii ani też grzybów. Z wydzielin ćwiartek doświadczalnych izolowano jedynie mykoplazmy (20).

Zakażone *M. bovigentialium* krowy nie wykazywały w okresie doświadczeń żadnych, klinicznie uchwytanych objawów ze strony układu pokarmowego, oddechowego i krwionośnego. Obserwowano natomiast dwukrotnie niewielki, przemijający wzrost ciepłoty wewnętrznej. Niewysoką gorączkę (wzrost o 0,5—1,0°C) stwierdzono u wszystkich krow po 48 godzinach od zakażenia. U 7 krow stwierdzono ponownie wzrost ciepłoty wewnętrznej w granicach 0,4—0,7°C w szóstej dobie po dowymieniowym wprowadzeniu *M. bovigentialium*.

Badania makroskopowe wymion, wykonane po uboju krow, wykazały wyraźne różnice zarówno w wyglądzie, jak i konsystencji pomiędzy ćwiartkami zakażonymi a zdrowymi. Objawy zapalenia po 7, 10 i 14 dniach od zakażenia manifestowały się wyraźnym obrzękiem (niekiedy galaretowatym) tkanki podskórnej i mięszonej. Cwiartki zakażone na przekroju miały żółtawą, ciemniejszą barwę niż zdrowe. Powierzchnia przekroju pokrywała się dużą ilością wysięku. Węzły chłonne nadwymieniowe zakażonej strony były wyraźnie powiększone, miały ciemniejsze zabarwienie, a powierzchnia ich przekroju pokrywała się wysiękiem.

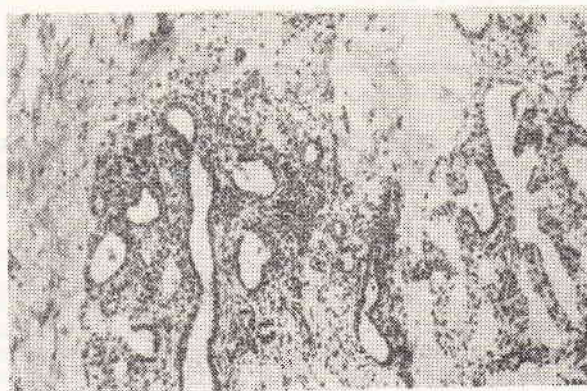


Ryc. 1. Zapalenie gruczołu mlekowego po 7 dniach od zakażenia *M. bovigentialium*. Widoczne liczne nacieki komórkowe w świetle pęcherzyków i tkance międzypęcherzykowej. H i E. Pow. ok. 160X

Po 21, 28 i 35 dniach od zakażenia stwierdzono, że konsystencja i ciemniejszą barwę miąższu ćwiartek doświadczalnych w stosunku do pozostałych. Powiększone natomiast w dalszym ciągu były węzły chłonne nadwymieniowe.

W preparatach histologicznych, wykonanych po 7 dniach od zakażenia, tj. w okresie najsilniej wyrażonych miejscowych objawów *mastitis* stwierdzono zmiany przedstawione na ryc. 1. Polegały one na obecności licznych, niejednokrotnie rozległych nacieków komórkowych w ścianach i świetle pęcherzyków oraz tkance łącznej międzypęcherzykowej. Nacieki składały się z limfocytów oraz granulocytów kwaso- i obojętnochnych. Komórki nabłonka gruczołowego nie były uszkodzone, zachowując oznaki czynności. Podobne zmiany obserwowano w preparatach sprządzonych w okresie 10 i 14 dni od zakażenia. Po 21 i 28 dniach ilość tkanki łącznej międzypęcherzykowej uległa zwiększeniu, a światło pęcherzyków zmniejszyło się. Zmiany stwierdzone po upływie 35 dni od zakażenia ilustruje ryc. 2. Wyraźnie widać, iż zejściem zapalenia było pogrubienie ścian pęcherzyków, rozrost tkanki łącznej międzypęcherzykowej, zmniejszenie się światła pęcherzyków i hipoplazja nabłonka wydzielniczego. W tkance łącznej w dalszym ciągu utrzymywały się nacieki limfocytarne.

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki, dotyczące przebiegu klinicznego były identyczne lub zbliżone do wyników innych autorów, którzy zakażali gruczoły mlekowe krow *M. bovigentialium* lub drobnoustrojami pokrewnymi z rodzaju *Mycoplasma* i *Acholeplasma* (2, 4, 7, 8, 9, 11, 14, 15). Wyniki te wskazują, że *mastitis* na tle mykoplazm ma przebieg przewlekły z okresem zaostrzenia choroby po kilku dniach od zakażenia. Jedynie przy zakażeniu *Mycoplasma bovis* obserwowano proces pierwotnie ostrej, który następnie przechodził w zapalenie przewlekłe (2, 12). Objawem typowym zapaleń gruczołu mlekowego u krow, wywołanych przez mykoplazmy, wydaje się być także ciągły, śluzowo-ropny wygląd wydzielin oraz mała bolesność zakażonych ćwiartek, towarzysząca dużemu obrzękowi i stwardnieniu. Również zmiany histologiczne, stwierdzone w doświadczalnych ćwiartkach były takie same, jak obserwowane przez innych autorów (2, 4, 7, 8, 19). Cechą charakterystyczną tych zmian była



Ryc. 2. Gruczoł mlekowy po 35 dniach od zakażenia *M. bovigentialium*. Widoczny rozrost tkanki łącznej, zmniejszenie się światła pęcherzyków, hipoplazja nabłonka wydzielniczego oraz nieliczne nacieki komórkowe w tkance łącznej międzypęcherzykowej. H i E. Pow. ok. 160X

postępująca inwolucja tkanki gruczołowej, wyrażająca się zmniejszeniem się światła pęcherzyków mlecznych oraz przerostem tkanki łącznej śródzrazikowej i międzyzrazikowej jako następstwo poprzedniego zapalenia.

Mimo wykazanych w przedstawionej pracy charakterystycznych objawów klinicznych i zmian histologicznych, prawidłowe rozpoznanie, jak i leczenie zapaleń wymienia, wywołanych przez mykoplazmy winno się jednak opierać na wynikach badań bakteriologicznych.

Wnioski

1. W wyniku dowymieniowego wprowadzenia szczepu *Mycoplasma bovis genitalium*, wyosobnionego z nasienia buhaja, wywołano *mastitis* u krów w warunkach doświadczalnych.

2. Zapalenie gruczołu mlekowego u krów wywołane przez *M. bovis genitalium* cechowało się przebiegiem przewlekłym z krótkotrwałym, przejściowym okresem zaostrzenia po 5 dniach od zakażenia.

3. Zejściem zapalenia gruczołu mlekowego, wywołanego przez *M. bovis genitalium* było stwardnienie zakażonych ćwiartek z ograniczeniem ich wydzielniczości jako następstwo zaniku pęcherzyków oraz przerostu tkanki łącznej śródzrazikowej i międzyzrazikowej.

Piśmiennictwo

1. Afshar A.: Vet. Bull. 145, 211, 1975.
2. Bennett R. H., Jasper D. E.: Vet. Microbiol. 2, 341, 1978.
3. Branny J., Zgórnjak-Nowosielska I.: Medycyna Wet. 27, 113, 1971.
4. Connole M. D., Laws L., Hart R. K.: Aust. vet. J. 43, 157, 1967.
5. Counter D. E.: Vet. Rec. 103, 130, 1978.
6. Durisic S.: Acta vet., Belgrad 26, 271, 1976.
7. Erfle V., Brunner A.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 90, 28, 1977.
8. Erno H.: Acta vet. scand. 8, 184, 1967.
9. Erno H., Aalund O.: Acta vet. scand. 13, 597, 1972.
10. Gourlay R. N., Wyld S. G., Burke N. F. S., Edmonds M. J.: Vet. Rec. 103, 74, 1978.
11. Hale H. H., Helmboldt C. F., Plastring W. N., Stula E. F.: Cornell Vet. 52, 582, 1962.
12. Jain N. C., Jasper D. E., Dellinger J. D.: Cornell Vet. 59, 10, 1969.
13. Jasper D. E.: J. Am. vet. med. Ass. 177, 1167, 1977.
14. Karbe E., Mosher A. H.: Zentbl. VetMed., B 15, 817, 1968.
15. Karbe E., Helmboldt C. F.: Zentbl. VetMed., B 15, 372, 1968.
16. Kehoe J. M., Norcross N. L., Carmichael L. E.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 143, 337, 1967.

17. Krzyżanowski J., Malinowski E., Wrona Z., Wawron W., Murawski J.: Medycyna Wet. 35, 623, 1979.
18. Lotan E.: Refuah vet. 27, 101, 1970.
19. Mosher A. H., Plastring W. N., Tourtellote M. E., Helmboldt C. F.: Am. J. vet. Res. 29, 517, 1968.
20. Nowakowski J.: Charakterystyka krajowych szczepów mykoplazm wyosobnionych od bydła. Praca doktorska, Lublin 1975.
21. Pfützner H., Bathke W., Schimmel D.: Arch. exp. VetMed 33, 411, 1979.
22. Stünzi H.: Schweizer Arch. Tierheilk. 115, 335, 1973.
23. Walser K., Bieber E., Dannerbeck G., Gropper M., Hropot M., Lankenfeld H., Mayer J., Vergho H., Viktor M.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 85, 266, 1972.
24. Wehnert Ch., Teichmann G., Hauke H., Schimmel D., Lantzsch Ch.: Mh. Vet.-Med. 32, 55, 1977.
25. Zalewska-Schönthaler N.: Biuletyn VI Zjazdu PTNW, Wrocław 1978.
26. Zgórnjak-Nowosielska I., Branny J.: Medycyna Wet. 26, 51, 1970.

Adres autora: dr Edward Malinowski, ul. P. Wołodajowskiego 3/103, 20-627 Lublin.

Малиновский Э., Овчаревич А., Новаковский Я. — Клиническое развитие мастита у коров, экспериментально зараженных *Mycoplasma bovis genitalium*.

Исследования провели на 10 коровах, у которых штаммом *Mycoplasma bovis genitalium*, изолированным из бычьего семени, заразили 16 долей вымени. По истечении 12 часов обнаружили рост числа клеток в молоке, а через 4 дня выделения имели слизево-гноевую вид. Между 5 и 8 днями наблюдали отек, затвердение и покраснение экспериментальных долей. Через 21 день выделения приобрели вид нормального молока. Число соматических клеток в 1 мл молока возвратилось к норме через 35 дней после заражения. Исходом воспаления было ограничение секреторности экспериментальных долей, инволюция железистой ткани и гипертрофия соединительной ткани.

Malinowski E., Owczarewicz A., Nowakowski J. — Clinical course of mastitis in cows infected with *Mycoplasma bovis genitalium* experimentally.

The examinations were performed on 10 cows whose 16 quarters were infected with *M. bovis genitalium* isolated from the bull semen. After 12 hours an increase of the number of cells in milk was found and after 4 days the secretion product of mucous-purulent character was noticed. Between 5 and 8 days there appeared oedema, induration and redness of the quarters. After 21 days the secretion product was normal and the number of somatic cells came back to the starting number after 35 days since infection. The limitation in the secretion of experimental quarters, involution of the glandular tissue and hyperplasia of the interstitial connective tissue were found.

DICK T. A., SILVER B. B.: Rozmieszczenie w jelitach szczura *Trichinella spiralis*. (Intestinal distribution of *Trichinella spiralis* in rats). J. Parasitol. 66, 427—477, 1980 (2).

Określono rozmieszczenie *Trichinella spiralis* w przewodzie pokarmowym szczurów zarażonych doświadczalnie larwami pasożyta w dawce 20 sztuk/g wagi ciała. Larwy podano sondą do żołądka. Szczep *T. spiralis* użyty do zakażenia szczurów cechował się dużym powinowactwem do jelita cienkiego zarówno u szczurów noworodków jak i u szczurów dojrzałych. Jednakże u szczurów dojrzałych większość pasożytów lokalizowała się w odcinku przednim jelit cienkich. Po zarażeniu do jelita czczego lub jelita biodrowego pasożyty nie wykazywały tendencji migrowania do dwunastnicy.

G.

CHURCH D. B.: Porównanie dożylnego i doustnego testu tolerancji glukozy u psów. (A comparison of intravenous and oral glucose testes in the dog). Res. vet. Sci. 29, 353—359, 1980 (3).

Określono poziom glukozy i insuliny we krwi żyłnej 12 zdrowych psów po dożylnym i doustnym podaniu glukozy w dawce 1 g/kg wagi ciała. Czas podania glukozy wynosił 30 sekund. W oparciu o analizę wariancji uzyskanych wyników stwierdzono, że test doustny cechuje wyższa zmienność. Test dożylny jest bardziej precyzyjny. Badania przeprowadzone na 12 psach z cukrzycą przeprowadzone z zastosowaniem testu dożylnego podania glukozy wskazują na konieczność oznaczania jej poziomu we krwi po 10, 20 i 40 minutach po podaniu glukozy.

G.