

ZAWARTOŚĆ ELEMENTÓW KOMÓRKOWYCH W MLEKU KRÓW PRZY STANACH ZAPALNYCH WYMIENIA O RÓŻNEJ ETIOLOGII

Stanisław Kowalczyk, Kazimierz Zabolicki, Wojciech Krzywoszyński

Katedra Położnictwa i Patologii Rozrodu Wydziału Weterynaryjnego SGGW
Kierownik: prof. dr Roman Hoppe

Nowoczesna diagnostyka zapaleń wymienia u bydła dąży niewątpliwie do uproszczenia metodyki i ograniczenia liczby testów rozpoznawczych, musi jednak uwzględniać obok klinicznego badania gruczołu oraz fizykalnego, chemicznego i bakteriologicznego badania mleka, również bezpośrednio lub pośrednio określanie zawartych w nim komórek.

Wzrost liczby elementów komórkowych w mleku stanowi bowiem zasadnicze kryterium oceny zaburzeń sekrecyjnych wymienia, chociaż nie wskazuje na rodzaj czynnika wywołującego je, do ustalenia którego niezbędne jest bakteriologiczne badanie wydzieliny gruczołu mlecznego. Naciek komórkowy do mleka jest, jak wiadomo, odczynem obronnym podrażnionych tkanek gruczołu, który wywołać mogą także inne szkodliwe czynniki niebakteryjne: mechaniczne, chemiczne lub termiczne. Jednak patologiczny wzrost liczby elementów komórkowych w mleku nasuwa z reguły podejrzenie obecności w wymieniu patogennej flory bakteryjnej, która nawet w przypadku pierwotnie aseptycznego stanu zapalnego przedostaje się do uległego schorzeniu narządu.

Liczni autorzy uzależniają liczbę komórek w chorobowo zmienionym mleku od rodzaju zarazka odpowiedzialnego za proces zapalny gruczołu mlecznego. Anderson i McLeod [1] podają, że średnia liczba komórek w mleku pochodzącym z ćwiartek zakażonych paciorkowcem zaburzeń laktacyjnych (*Str. dysgalactiae*) wynosiła 1 400 000, paciorkowcem wymieniowym (*Str. uberis*) — 1 900 000, a paciorkowcem bezmleczności (*Str. agalactiae*) — 2 100 000. Murphy [8] oraz Pattison i Helman [9] są zdania, że liczba komórek w mleku przekracza 1 mln w następstwie zakażenia wymienia paciorkowcem bezmleczności. Diernhofer [2] podaje natomiast, że wśród przebadanych 9000 próbek mleka, 990 (11%) zawierało paciorkowca bezmleczności, lecz nie wykazywało zwiększonej liczby komórek. Little [5, 6] twierdzi, że u pierworodek zakażonych paciorkowcem bezmleczności, liczba komórek w mleku waha się od 300 000

do 10 milionów. Wahania te wiążą się prawdopodobnie z okresowym namnażaniem się drobnoustrojów. Natomiast Kästli [4], Plastridge [10] oraz Loken i Hoyt [7] uważają, że znacznie silniejsze podrażnienie tkanek narządu oraz wzrost liczby elementów komórkowych powodują szczepy gronkowca hemolitycznego. Zdaniem Joana i wsp. [3] paciorkowce i gronkowce hemolityczne mogą utrzymywać się miesiącami w wymieniu i powodować jedynie obniżenie mleczości dotkniętej zakażeniem ćwiartki, albo też nie wywoływać dających się stwierdzić klinicznie zmian w jej tkankach oraz wydzielinie.

Celem niniejszej pracy było ustalenie zależności pomiędzy rodzajem wyhodowanych z mleka drobnoustrojów a liczbą zawartych w nim komórek oraz śledzenie zmian w zawartości komórek w mleku po zastosowaniu leczenia.

MATERIAŁ I METODY

Przebadano 164 próbki mleka uzyskane z poszczególnych ćwiartek wymienia przejawiających podkliniczne, przewlekłe i ostre stany zapalne. Wśród badanych próbek 54 (32,9%) zawierały paciorkowca bezmleczości, 4 (2,4%) inne paciorkowce (zaburzeń laktacyjnych i wymieniowego) 21 (12,8%) gronkowca niehemolitycznego białego, 61 (37,2%) gronkowca hemolitycznego, 13 (7,9%) florę mieszaną (gronkowce i paciorkowce) oraz 11 (6,7%) pałeczki okrężnicy.

Liczbę komórek w mleku określano metodą Prescottta i Breeda, licząc je w 10 polach widzenia mikroskopu na preparatach barwionych metodą Bradhoursta. Drobnoustroje różnicowano przy pomocy pożywek wybiórczych; przy ocenie ich patogenności dla gruczołu mlecznego brano również pod uwagę nasilenie fagocytozy.

Do zakażonych ćwiartek wymienia przejawiających podkliniczne lub przewlekłe stany zapalne wprowadzano w okresie zasuszenia po 100 ml 1% wodnego roztworu detreomycyny Polfa, a do ćwiartek zdrowych zapobiegawczo po 50 ml tego samego leku.

Pierwsze próbki kontrolne mleka pobierano po upływie przynajmniej 10 dni od wycielenia, a następnie 3-4-krotnie w odstępach mniej więcej miesięcznych. Uzyskane wyniki podano w tabeli. Wynika z niej, że w mleku pochodzącym z ćwiartek wymienia objętych podklinicznym lub przewlekłym procesem zapalnym, wywołanym przez paciorkowca bezmleczości, występowały poważne wahania w zawartości komórek (od 250 000 do 3 500 000). Największy jednak odsetek próbek tej grupy (55,6%) zawierał od 500 000 do 1 mln komórek, a ich średnia wynosiła 747 000. Były to przeważnie wielojądrzaste leukocyty obojętnochłonne, których współdziałanie sięgało niekiedy nawet do 90% wszystkich komórek. Często występowały również leukocyty kwasochłonne. Przy przewlekłym przebiegu schorzenia regularnie pojawiały się komórki nabłonka walco-

Tabela

Rodzaj zakażenia i liczba elementów komórkowych w mleku

Liczba elementów komórkowych w tysiącach	Rodzaj drobnoustrojów											
	paciorkowiec bezmleczności		inne paciorkowce		gronkowiec hemolityczny		gronkowiec niehemolityczny		flora mieszana		paleczka okrężnicy	
	liczba	%	liczba	%	liczba	%	liczba	%	liczba	%	liczba	%
Do 300	4	7,4	1	25	—	14	66,7	1	7,7	—	—	
300-500	13	24,1	2	50	—	7	33,3	8	61,5	—	—	
500-1000	30	55,6	1	25	42,6	—	—	2	15,4	—	—	
1000-2000	6	11,1	—	—	36,1	—	—	1	7,7	—	—	
2000-5000	1	1,8	—	—	21,3	—	—	1	7,7	3	27,3	
Niepoliczalna	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8	72,7	
Od — do	250-3500	—	300-700	—	750-2500	250-400	350-3500	4000 — niepoliczalna	—	—	—	
Średnio	747	—	450	1387	307	762	ponad 5 mln	—	—	—	—	
Razem	54	32,9	4	2,4	61	37,2	21	12,8	13	7,9	11	6,7

watego dróg wyprowadzających mleko. Jeśli proces zapalny dotyczył również mięszu, widoczne były także komórki nabłonka brukowego. Poza wymienionymi komórkami w polu widzenia mikroskopu występowały również krótkie lub długie łańcuszki paciorkowca, które wielokrotnie ulegały fagocytozie.

Podobnie kształtował się poziom i obraz komórek w mleku z ćwiartek zakażonych florą mieszaną przy średniej 762 000. Inne paciorkowce (paciorkowiec zaburzeń laktacyjnych i paciorkowiec wymieniowy) powodowały jedynie nieznaczny wzrost liczby komórek w mleku.

Obecność w mleku gronkowca niehemolitycznego, który uważany jest ogólnie za zarazek niepatogenny dla wymienia i rzadko wywołuje jego stany zapalne, nie wiązała się z reguły z wyraźnym wzrostem w nim zawartości komórek, jednak liczba ich w 7 przypadkach (33,3%) przekroczyła 300 000, a średnia arytmetyczna komórek w tej grupie próbek wyniosła 307 000. Natomiast próbki mleka uzyskanego z ćwiartek wymienia zakażonych gronkowcem hemolitycznym (w większości przypadków złocistym) przejawiały wyraźny wzrost liczby elementów komórkowych, która wahała się od 750 000 do 2 500 000, a jej średnia wynosiła 1 380 000.

Przy procesach zapalnych gruczołu mlecznego na tle pałeczki okrężnicy (*E. coli*), wyłącznie ostrych, liczba komórek w mleku wzrastała do 4-5 mln, a po pojawieniu się wyraźnych zmian makroskopowych w wydzielinie stawała się niepoliczalna.

Badanie próbek kontrolnych wykazało, że w mleku z ćwiartek wyleczonych liczba elementów komórkowych nie przekraczała 300 000 w 1 ml i utrzymywała się na tym poziomie tak długo, dopóki nie nastąpiło ponowne zakażenie. Do ponownego zakażenia wyleczonych ćwiartek gronkowcami hemolitycznymi dochodziło już w 2-3 miesiącu po wycieleniu, a paciorkowcami, względnie florą mieszaną, po upływie 3-4 miesięcy. W mleku z ćwiartek zakażonych gronkowcem hemolitycznym, które nie zostały wyleczone, zawartość komórek nie tylko nie uległa obniżeniu w następnej laktacji, lecz odwrotnie, zwiększała się w miarę rozwoju zmian patologicznych w tkance gruczołowej.

Wyniki naszych badań wskazują, że pomiędzy rodzajem drobnoustrojów odpowiedzialnych za proces zapalny wymienia i liczbą elementów komórkowych w mleku istnieje pewna zależność, związana głównie ze zjadliwością zarazków, wrażliwością tkanek narządu oraz stopniem podrażnienia i nasilenia ich odczynu. Niewątpliwie poważną rolę odgrywa liczba i rodzaj flory bakteryjnej oraz rodzaj produktów jej przemiany materii. Dotyczy to przede wszystkim gronkowców hemolitycznych, zwłaszcza złocistych, które wytwarzają hemolizyny i przenikają w głąb tkanek wymienia, w następstwie czego powodują silne jego podrażnienie i wzrost liczby komórek w mleku. Natomiast paciorkowce namnażające się w mleku i na powierzchni nabłonków mogą utrzymywać się

w wymieniu nie powodując silniejszego podrażnienia jego tkanek. Uzyskane przez nas wyniki wydają się wskazywać, że poziom elementów komórkowych w mleku zależy głównie od wrażliwości tkanek wymienia na czynnik chorobotwórczy, nasilenia procesu zapalnego i zaawansowania patologicznych zmian w jego obrębie.

PIŚMIENICTWO

1. Anderson E. B., McLeod P.: The effect of a period of nonmilking on the leucocyte count of milk. *J. Dairy Sci.* 32, 649, 1949.
2. Diernhofer K.: Zur modernen Mastitis — Behandlung beim Rind. *Mh. Vet. Med.* 13, 289, 1956.
3. Joan V. C., Dodd F. H., Lee J. M., Neave F. K.: The effect of bacterial infection on the milk yield of the individual quarters of the cow's udder. *J. Dairy Res.* 17, 128, 1950.
4. Kästli P.: Die Ursachen der Mastitis. *Tierärztl. Umsch.* 18, 527, 1965.
5. Little R. B.: Bovine mastitis. I. The significance of the dose factor in the production of experimental mastitis. *Cornell Vet.* 17, 297, 1937.
6. Little R. B.: Bovine mastitis. III. A comparison of bacteriological and physiological reactions of normal and mastitis milk from young cows. *Cornell Vet.* 18, 23, 1938.
7. Loken K. I., Hoyt H. H.: Studies on bovine staphylococci mastitis. I. Characterization of staphylococci. *Am. J. vet. Res.* 23, 534, 1962.
8. Murphy J. M.: The genesis of bovine udder infection and mastitis. I. The incidence of streptococcal infection in relationship to predisposing factors. *Ref. Dairy Sci. Abstr.* 9, 134, 1947.
9. Pattison I. H., Holman H. H.: Studies on experimental streptococcal mastitis. IV. The disease caused by inoculation of *Strept.agal.* strain 813 into the teat canal of goats. *J. Comp. Path.* 61, 26, 1951.
10. Flastridge W. N.: Bovine mastitis. A review. *J. Dairy Sci.* 41, 1141, 1958.

С. Ковальчик, К. Жоболицки, В. Кшивошиньски

ЧИСЛО КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В МОЛОКЕ КОРОВ С МАСТИТАМИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Резюме

Исследовали 164 образца молока полученного из отдельных четвертей молочной железы коров с ее латентными, хроническими или острыми воспалениями различной этиологии.

Среди исследованных образцов 54 (32,9%) содержали стрептококки агалактии, 4 (2,4%) другие стрептококки (стрептококки дигалактии и стрептококки иберис), 21 (12,8%) негемолитический стафилококк, 61 (37,2%) гемолитический стафилококк, 13 (7,9%) смешанную флору (стрепто- и стафилококки) и 11 (6,7%) кишечную палочку.

Изолированные из молока бактерии дифференцировали на специфических питательных средах. Клеточные элементы в молоке считали по упрощенному методу Прескотт-Брида на мазках крашенных методом Брадхаурста. Результаты приведены в таблице 1.

В заключение установлено следующее: (1) В молоке из четвертей вымени пораженных латентным или хроническим воспалением вызванным стрептококком агалактии обнаружены серьезные колебания в содержании клеток (от 250 тыс. до 3,5 мил.). Однако самый большой процент образцов этой группы содержал от 500 тыс. до 1 мил. клеток. (2) Подобным образом представлялся уровень клеточных элементов в молоке происходящем из четвертей инфицированных смешанной бактериальной флорой. (3) Другие стрептококки вызывали лишь незначительное увеличение числа клеточных элементов молока. (4) Наличие в молоке негемолитического стафилококка не всегда связывалось с увеличением числа его клеток. (5) Образцы молока из четвертей инфицированных гемолитическим стафилококком (в большинстве случаев золотистым) показывали четкое увеличение числа клеточных элементов, которое колебалось от 750 тыс. до 2,5 мил., при средней 1 380 000. (6) В случае маститов на почве кишечной палочки (исключительно острых) число клеточных элементов в молоке увеличивалось до 4-5 мил., а после появления макроскопных изменений в секреции становилось несчитаемым.

S. Kowalczyk, K. Żaboliński, W. Krzywoszyński

CONTENT OF CELL ELEMENTS IN THE MILK OF COWS WITH MASTITIS OF DIFFERENT ETIOLOGY

Summary

The examination of 164 milk samples taken from particular udder quarters of cows with latent, chronic or acute mastitis caused by different kinds of bacteria was carried out. Among these samples 54 (32.9%) contained *Str. agalactiae*, 4 (2.4%) other *Streptococci* (*Str. agalactiae* and *Str. uberis*), 21 (12.8%) nonhemolytic white *Staphylococci*, 61 (37.2%) hemolytic *Staphylococci*, 13 (7.9%) mixed kinds of bacteria (*Streptococci* and *Staphylococci*) and 11 (6.7%) *Coliform* organisms. The microorganisms were separated on the selected differential media. The cell count was made by means of the simplified Prescott and Breed method in the preparations stained according to the Bradhurst method. The results are presented in Table 1.

The following conclusions have been drawn: (1) In the milk from the udder quarters showing latent or chronic mastitis caused by *Str. agalactiae*, the cell count varied greatly (from 250 thous. to 3.5 millions), but most samples of this group contained from 500 thous. to 1 million of leucocytes per 1 ml. (2) Similar cell count was in the milk from the quarters showing the mixed infection. (3) Other *Streptococci* caused only slight increase of leucocyte count in milk. (4) The presence of nonhemolytic *Staphylococci* in the milk was only seldom connected with higher cell count. (5) Contrary to the milk from the quarters infected with hemolytic *Staphylococcus* (mainly *S. aureus*) showed a rise of leucocyte count varying from 750 thous. to 2.5 millions and the average cell count was 1,380 000. (6) In the milk from the quarters with mastitis (mostly acute) caused by *Coliform organisms* the number of leucocytes was 4-5 millions per ml, and after occurrence of distinct macroscopic changes in the secretion it became uncountable.