

Bacterial inflammation of mammary gland in the bitch

Seweryn T.¹, Boryczko Z.², Veterinary Clinic Marcel 2, Warsaw¹, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW²

Cases of mammary gland inflammation in bitches are quite common in veterinary practice. They often result in serious health problems in the offspring and may cause the loss of the whole litter. The aim of this paper was to present the results of microbiological evaluation of mammary secretion from bitches in early lactation or in false pregnancy. 78 animals were presented to the veterinary clinic between 5 and 14 day of lactation or during phantom pregnancy. Samples of mammary gland secretion were taken aseptically from every teat for qualitative and quantitative bacteriological examination. Cytological examination (somatic cell count, SCC), was also performed. 43.4% of milk samples from lactating females and 37% from bitches in false pregnancy were bacteriologically positive with at least 1×10^2 CFU/1ml. Gram positive cocci dominated in canine mammary gland secretions. In 89.29% of bacteriologically positive samples there were 1×10^6 or more somatic cells per 1ml, indicating mammary gland inflammation. The interpretation of obtained results was presented.

Keywords: mastitis, bacteria, mammary gland secretions, somatic cells.

Z wydzielin gruczołu sutkowego suki w szczególności objętego stanem zapalnym, najczęściej izoluje się bakterie Gram-dodatnie z rodzaju *Staphylococcus*, rzadziej paciorkowce lub Gram-ujemne pałeczki *E. coli*. W ostrych zapaleniach gruczołu sutkowego dominującą rolę odgrywają gronkowce izolowane w czystej kulturze (89,3% ostrych *mastitis*), a wśród nich w znaczącym odsetku *Staphylococcus aureus* (1, 2). Sama obecność drobnoustrojów w wydzielinie gruczołu nie jest jednak dowodem toczącego się w nim procesu chorobowego. Przyjmuje się, iż u od 17 do 37% suk, niewykazujących klinicznych zmian w gruczole sutkowym oraz w obrazie wydzieliny tego gruczołu, z mleka izolowane są drobnoustroje w przeważającej liczbie Gram-dodatnie (w szczególności z rodzaju *Staphylococcus*; 3). Bardzo istotny zatem w postawieniu rozpoznania jest nie tylko sam pozytywny wynik hodowli mikrobiologicznej, lecz liczba i rodzaj bakterii występujących w jednostce objętości badanej wydzieliny oraz liczba i rodzaj komórek somatycznych. Wskaźniki te wydają się szczególnie istotne w rozpoznawaniu podklinicznych stanów zapalnych sutków u suk.

Bakteryjne zapalenia gruczołu sutkowego u suk

Tomasz Seweryn¹, Zdzisław Boryczko²

z Kliniki Weterynaryjnej Marcel 2 w Warszawie¹ oraz Zakładu Rozrodu Zwierząt, Andrologii i Biotechnologii Rozrodu Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie²

Jako graniczną wartość dla bakterii izolowanych z wydzieliny mlecznej suki, wyznaczoną na podstawie oceny klinicznej sutka u suk, powinno się traktować liczbę bakterii od 1×10^4 do 1×10^5 jednostek tworzących kolonie (jtk) / ml wydzieliny (3). Powszechnie znaną sytuacją jest obecność u zwierząt tzw. fizjologicznej flory bakteryjnej, np. w obrębie błony śluzowej pochwy, pęcherza moczowego lub dróg wyrowadzających mocz (4, 5). W przypadkach zachowanej homeostazy liczba drobnoustrojów utrzymuje się na poziomie fizjologicznym (nieszkodliwym dla organizmu). W momencie zachwiania tej subtelnej równowagi dochodzi do namnożenia się bakterii i rozwoju choroby. Stan taki może mieć miejsce również w sutkach (1, 6).

Zapalenia gruczołu sutkowego (*mastitis*), które są jedną z bardziej istotnych chorób dotyczących ten gruczoł, w swym klasycznym przebiegu najczęściej dotyczą okresu laktacji poporodowej oraz ciąży urojonej. Opisane są również stany zapalne tkanki gruczołowej w przebiegu procesu nowotworowego (w szczególności o charakterze guza inwazyjnego), tzw. zapalenia rakowe, będące wynikiem uszkodzenia tkanek oraz ich reakcji odczynowej na rozwijający się proces nowotworowy (7).

Typowe *mastitis* u suk przebiega najczęściej w postaci zapalenia: ostrego, podklinicznego albo ropnego lub zgorzelninowego.

Najczęściej procesem chorobowym objęty jest jeden sutek, rzadziej kilka lub sutki po jednej stronie brzucha (8). W przypadku zapalenia podklinicznego choroba matki może przejawiać się w postaci upadków szceniąt lub być przyczyną tzw. zespołu słabego szcenięcia (9, 10).

Jednym z istotnych czynników sprzyjających powstawaniu stanów zapalnych sutka u suk są zaburzenia odpływu wydzieliny. Galaktostaza najczęściej ma miejsce w przypadku niedostatecznego opróżnienia gruczołu z wydzieliny, często jako konsekwencja padnięcia miotu, co doprowadza do zalegania mleka. Zdarza się również w przypadku obecności złożeń mineralnych w przewodach mlecznych uniemożliwiających lub utrudniających odpływ wydzieliny. Sytuacje te w konsekwencji

prowadzą do mechanicznego uszkodzenia pęcherzyków mlekowych, co skutkuje odczynem zapalnym oraz zwiększa możliwość zakażenia.

Zakażenie gruczołu sutkowego następuje najczęściej drogą wstępującą, rzadziej przez uszkodzoną skórę lub drogą hematogenną (11).

W badaniach własnych przeprowadzono ocenę mikrobiologiczną wydzieliny gruczołu sutkowego suk, będących w laktacji poporodowej lub laktacji wynikającej z ciąży urojonej, pod kątem rozpoznawania stanów zapalnych w tym gruczole. Ocenę cytologiczną wydzieliny gruczołu sutkowego potraktowano jako metodę referencyjną w odniesieniu do wykrywania stanu zapalnego sutków. Badania te stanowią kontynuację pracy, w której oceniono wartość badania ultrasonograficznego w ocenie zapalenia sutków (12).

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 78 sukach (394 sutki) różnych ras lub mieszańców w wieku od 2 do 8 lat znajdujących się w okresie od 5 do 14 dnia laktacji poporodowej lub wynikającej z objawów ciąży urojonej.

Suki podzielono na dwie grupy:

- pierwszą stanowiło 37 suk (205 sutków) znajdujących się w okresie laktacji poporodowej,
- drugą stanowiło 41 suk (189 sutków) wykazujących objawy ciąży urojonej.

Po wykonaniu badania klinicznego gruczołu sutkowego pobierano jałowo wydzielinę gruczołu, w ilości około 1 ml, w celu wykonania badań bakteriologicznych i cytologicznych.

Badanie mikrobiologiczne wydzieliny gruczołu sutkowego

Badania mikrobiologiczne wykonywano, pobierając po 100 μ l wydzieliny i posiewając uzyskany materiał na podłoża do hodowli drobnoustrojów, takie jak: podłoże Columbia Agar z dodatkiem krwi (AK) Bio Merieux – nr katalogowy 43041 oraz podłoże MacConceya (MC) Bio Merieux – nr katalogowy 43141. Następnie posiewy inkubowano w temp. 37°C

przez 24–48h. Liczono wyrosłe kolonie bakteryjne i na tej podstawie określano liczbę drobnoustrojów w 1 ml badanej wydzieliny.

Przyjęto, że graniczna liczba bakterii, na podstawie której można wnioskować o zakażeniu bakteryjnym sutka wynosi 1×10^2 jtk (jednostek tworzących kolonie) i więcej w 1 ml wydzieliny gruczołu sutkowego (3). Wstępną identyfikację drobnoustrojów prowadzono na podstawie oceny preparatów mikroskopowych zabarwionych metodą Grama. Dalsze różnicowanie izolowanych bakterii przeprowadzano przy użyciu testów biochemicznych firmy Bio Merieux, takich jak: API Strep (numer katalogowy 20600), API Staph (numer katalogowy 20500) oraz API 20E (numer katalogowy 20100) według procedury zalecanej przez firmę.

Badanie cytologiczne wydzieliny gruczołu sutkowego

Badanie cytologiczne wydzieliny gruczołu sutkowego wykonano metodą mikroskopową zgodnie z procedurą według polskiej normy (PN ISO 13366-1). Uzyskany wynik zaokrąglano następnie do wartości 10 000 według zasady: wartość 5000 i poniżej – zaokrąglenie w dół, wartość 5001 i powyżej – zaokrąglenie w górę.

Punktem odniesienia w ocenie obecności lub braku stanu zapalnego była liczba komórek somatycznych w 1 ml wydzieliny gruczołu sutkowego na poziomie 1×10^6 i powyżej. Dla próbek wydzieliny, gdzie stwierdzono liczbę komórek wskazującą na zapalenie gruczołu obliczono również odsetek komórek fagocytarnych w odniesieniu do ogólnej liczby leukocytów. Ocenie poddano nie mniej niż 400 komórek somatycznych na każdym z dwóch pól rozmazu.

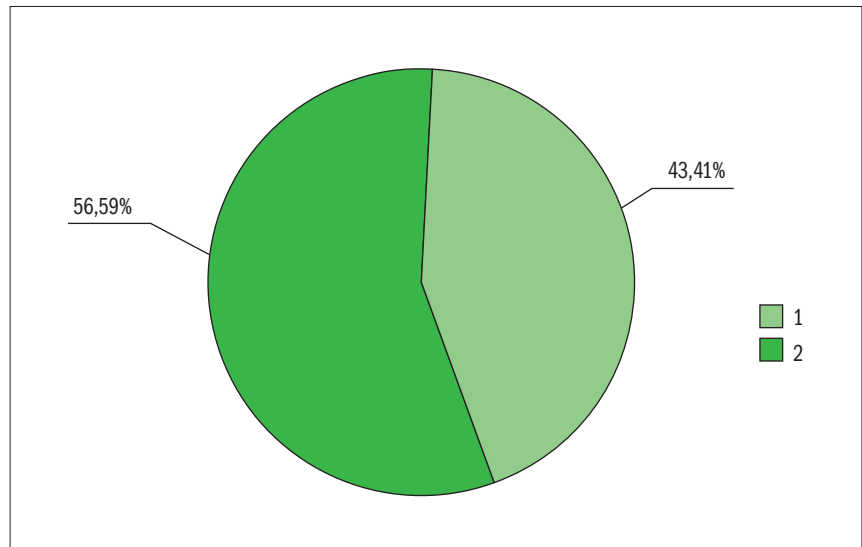
Analiza statystyczna uzyskanych wyników

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej stosując test t. Różnice w wariancji wyznaczono za pomocą testu F. Do wyliczeń statystycznych użyto programu komputerowego Statgraphics Plus.

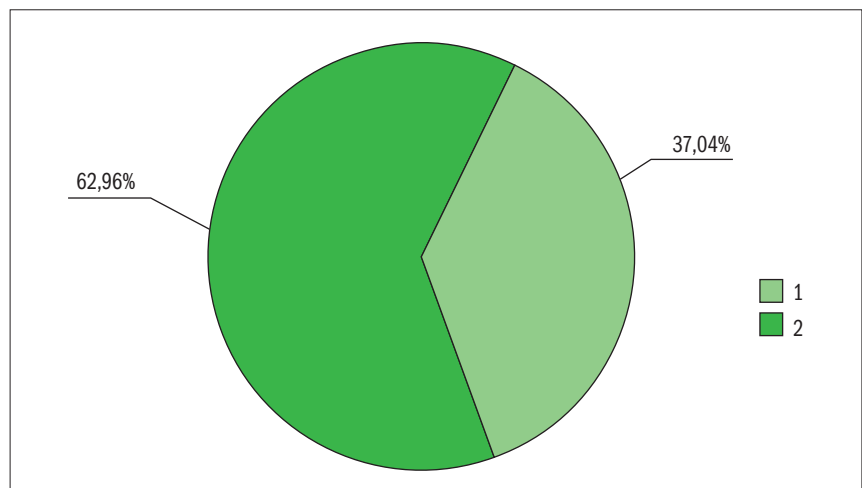
Wyniki

Wyniki badania mikrobiologicznego próbek wydzieliny gruczołu sutkowego, pobranych od suk będących w okresie laktacji poporodowej

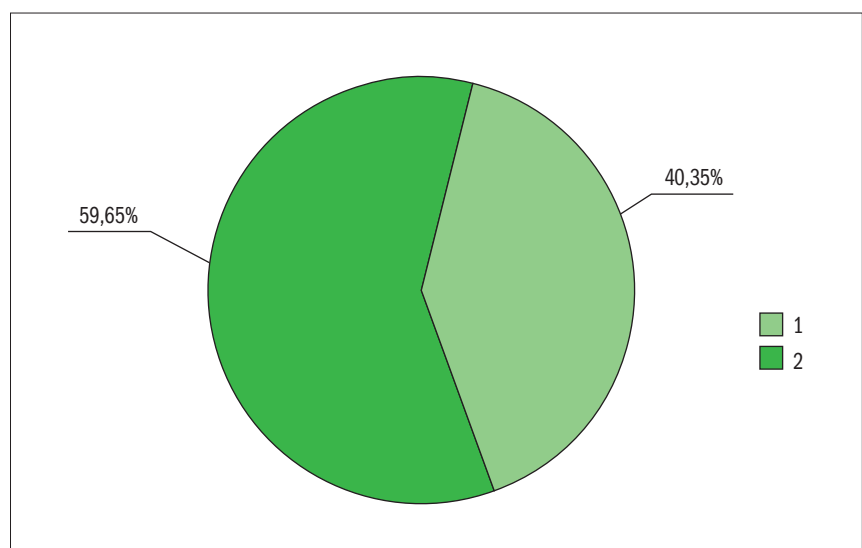
Spośród 205 przebadanych próbek wydzieliny gruczołu sutkowego 89, co stanowi 43,41% całości, okazało się pozytywnych mikrobiologicznie – wyhodowano



Ryc. 1. Wyniki badania mikrobiologicznego próbek wydzieliny gruczołu sutkowego, pobranych od suk będących w okresie laktacji poporodowej. Objaśnienia: 1. Odsetek próbek, z których wyhodowano bakterie w liczbie większej lub równej 1×10^2 jtk / ml. 2. Próbkę negatywne



Ryc. 2. Wyniki badania mikrobiologicznego próbek wydzieliny gruczołu sutkowego, pobranych od suk wykazujących objawy ciąży urojonej. Objaśnienia: 1. Odsetek próbek, z których wyhodowano bakterie w liczbie większej lub równej 1×10^2 jtk / ml. 2. Próbkę negatywne



Ryc. 3. Wyniki badania mikrobiologicznego wydzieliny gruczołu sutkowego, pobranej od suk w okresie laktacji poporodowej oraz ciąży urojonej. Objaśnienia: 1. Odsetek próbek, z których wyhodowano bakterie w liczbie większej lub równej 1×10^2 jtk / ml. 2. Próbkę negatywne

Tabela 1. Liczba bakterii w 1 ml wydzieliny gruczołu sutkowego, pobranej od suk będących w okresie laktacji poporodowej oraz ciąży urojonej (n = 159)

Kategoria	Liczba bakterii w ml wydzieliny	Liczba próbek w danej kategorii	%
1.	1×10^2	6	3,78
2.	1×10^3	22	13,83
3.	1×10^4	36	22,64
4.	5×10^4	49	30,82
5.	1×10^5	32	20,12
6.	2×10^5	11	6,92
7.	3×10^5	3	1,89

Tabela 2. Porównanie wyników badania bakteriologicznego próbek wydzieliny gruczołu sutkowego z wynikami badania cytologicznego w okresie laktacji poporodowej oraz ciąży urojonej (n = 159)

Kategoria	Liczba bakterii w 1 ml wydzieliny	Ogólna liczba próbek w danej kategorii	Liczba próbek w danej kategorii, gdzie badaniem cytologicznym wykryto zapalenie	Odsetek próbek pozytywnych cytologicznie
1.	1×10^2	6	0	0
2.	1×10^3	22	2	9,09
3.	1×10^4	36	4	11,11
4.	5×10^4	49	38	77,55
5.	1×10^5	32	27	84,37
6.	2×10^5	11	10	90,90
7.	3×10^5	3	3	100,00

Tabela 3. Mikroorganizmy wyhodowane z próbek wydzieliny gruczołu sutkowego, pobranych od suk w przebiegu laktacji poporodowej oraz ciąży urojonej

Drobnoustrój	Liczba próbek, z których wyhodowano bakterie	%
<i>Staphylococcus hominis</i>	28	17,61
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	11,96
<i>Staphylococcus intermedius</i>	14	8,8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12	7,55
<i>Staphylococcus hyicus</i>	11	6,92
<i>Staphylococcus</i> spp.	59	37,1
<i>Pasteurella multocida</i>	2	1,26
<i>Micrococcus</i> spp.	7	4,4
<i>E. coli</i>	7	4,4

z nich bakterie w liczbie większej lub równej 1×10^2 jtk/ml (ryc. 1).

Wyniki badania mikrobiologicznego próbek wydzieliny gruczołu sutkowego, pobranych od suk wykazujących objawy ciąży urojonej

Spośród 189 przebadanych próbek wydzieliny gruczołu sutkowego 70, co stanowi 37,04%, okazało się pozytywnych mikrobiologicznie – wyhodowano z nich bakterie (ryc. 2).

Stopień zakażenia próbek wydzieliny gruczołu sutkowego, pobranych od suk w okresie laktacji poporodowej oraz ciąży urojonej

Według przyjętego kryterium próbek pozytywnych mikrobiologicznie, łącznie było 159, co stanowi 40,35% ogółu badanych (ryc. 3). Różny był stopień zakażenia wydzieliny gruczołów sutkowych. Uwzględniając kryterium stopnia zakażenia, można było podzielić próby pozytywne mikrobiologicznie na 7 kategorii.

Najwyższy odsetek próbek zakażonych zanotowano w kategoriach: trzeciej – 1×10^4 jtk/ml (36 próbek – 22,64%); czwartej – 5×10^4 jtk/ml (49 próbek – 30,82%) oraz piątej – 1×10^5 jtk/ml (32 próbki – 20,12%). Wyniki te przedstawione są w tabelach 1 i 4.

Liczba bakterii w 1 ml wydzieliny gruczołu sutkowego uznanej na podstawie badania cytologicznego jako zapalna pobranej od suk, będących w okresie laktacji poporodowej oraz ciąży urojonej

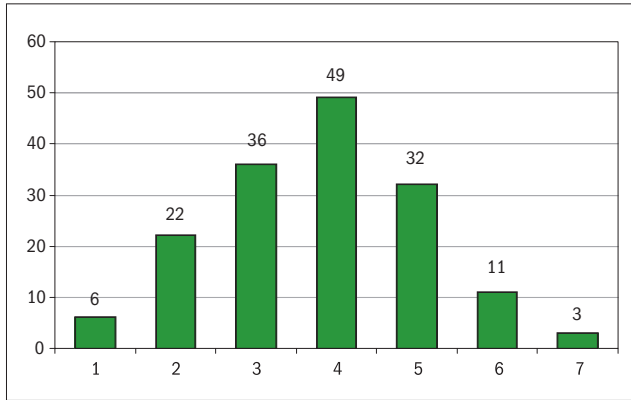
Liczbę bakterii obecnych w 1 ml wydzieliny gruczołu sutkowego dla próbek pozytywnych mikrobiologicznie oraz takich, w których badaniem cytologicznym stwierdzono stan zapalny sutka przedstawiono w tabeli 2 oraz na ryc. 5. Przy zakażeniu 1×10^2 nie stwierdzono próbek cytologicznie pozytywnych. Przy zakażeniu: 1×10^3 stwierdzono 2 próbki cytologicznie pozytywne z 22 przebadanych. Przy zakażeniu 1×10^4 w 4 próbkach wynik badania cytologicznego z liczby 36 przebadanych był pozytywny. Przy zakażeniu 5×10^4 38 z 49 przebadanych okazało się pozytywnych cytologicznie. Przy zakażeniu 1×10^5 27 było cytologicznie pozytywnych z 32 przebadanych, natomiast przy zakażeniu 2×10^5 10 przebadanych próbek z 11 było cytologicznie pozytywnych. Przy zakażeniu 3×10^5 , 3 przebadane próbki były pozytywne cytologicznie.

Identyfikacja mikroorganizmów wyhodowanych z próbek wydzieliny gruczołu sutkowego pobranych, od suk w okresie laktacji poporodowej oraz ciąży urojonej

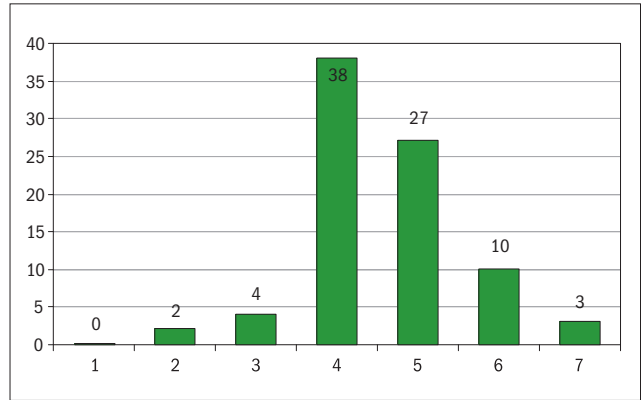
Wśród mikroorganizmów obecnych w wydzielinie gruczołu sutkowego dominowały bakterie z rodzaju *Staphylococcus* (143 próbki, co stanowi 89,94%), w tym: *S. hominis* – 28 próbek (17,61%), *S. aureus* 19 próbek (11,96%), *S. intermedius* 14 próbek (8,8%), *S. epidermidis* 12 próbek (7,55%), *S. hyicus* 11 próbek (6,92%) i *Staphylococcus* spp. 59 próbek (37,1%). Wyizolowano również: *E. coli* z 7 próbek (4,4%), *Micrococcus* spp. z 7 próbek (4,4%) i *Pasteurella multocida* z 2 próbek (1,26%; tab. 3).

Średnia liczba komórek somatycznych w wydzielinie gruczołu sutkowego u suk, będących w okresie laktacji poporodowej oraz ciąży urojonej

Średnia zawartość komórek somatycznych w 1 ml wydzieliny dla całej populacji przebadanych próbek wynosiła



Ryc. 4. Liczba próbek, w których wykryto bakterie w wydzielinie gruczołu sutkowego pobranej od suk będących w okresie laktacji poporodowej i ciąży urojonej (n = 159). Objaśnienia: Liczba bakterii (jtk) w 1 ml wydzieliny: 1 - 1×10^2 jtk/ml; 2 - 1×10^3 jtk/ml; 3 - 1×10^4 jtk/ml; 4 - 5×10^4 jtk/ml; 5 - 1×10^5 jtk/ml; 6 - 2×10^5 jtk/ml; 7 - 3×10^5 jtk/ml



Ryc. 5. Liczba próbek wydzieliny gruczołu sutkowego uznanych na podstawie badania cytologicznego za zapalną zależnie od liczby bakterii (jtk) w 1 ml wydzieliny (n = 84). Objaśnienia: Liczba bakterii (jtk) w 1 ml wydzieliny: 1 - 1×10^2 jtk/ml; 2 - 1×10^3 jtk/ml; 3 - 1×10^4 jtk/ml; 4 - 5×10^4 jtk/ml; 5 - 1×10^5 jtk/ml; 6 - 2×10^5 jtk/ml; 7 - 3×10^5 jtk/ml

$0,81 \pm 0,51 \times 10^6$, z czego odpowiednio dla laktacji poporodowej $0,93 \pm 0,55 \times 10^6$ oraz dla ciąży urojonej $0,70 \pm 0,42 \times 10^6$. Dla wszystkich próbek wydzieliny gruczołu sutkowego, w których badaniem cytologicznym wykryto *mastitis* średnia zawartość komórek somatycznych wynosiła $1,53 \pm 0,49 \times 10^6$, z czego odpowiednio dla laktacji poporodowej $1,74 \pm 0,55 \times 10^6$ oraz dla ciąży urojonej $1,31 \pm 0,29 \times 10^6$. Dla wszystkich tych próbek, gdzie wykryto *mastitis* odsetek komórek fagocytarnych w ogólnej liczbie leukocytów kształtował się na poziomie powyżej 60%. Dla wszystkich próbek wydzieliny gruczołu sutkowego, w których badaniem cytologicznym nie wykryto *mastitis* średnia zawartość komórek somatycznych wynosiła $0,59 \pm 0,21 \times 10^6$, z czego odpowiednio dla laktacji poporodowej $0,67 \pm 0,19 \times 10^6$ oraz dla ciąży urojonej $0,49 \pm 0,18 \times 10^6$ (tab. 4).

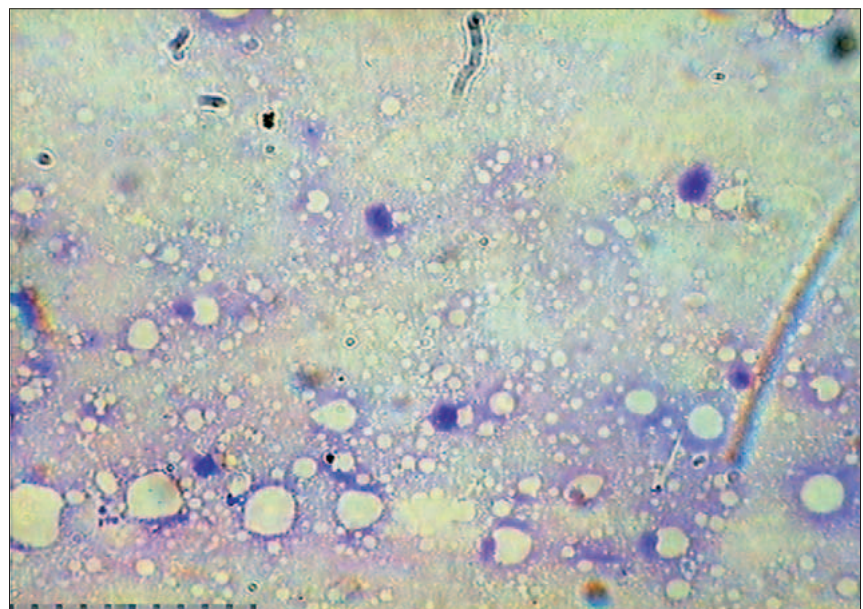
Obraz cytologiczny wydzieliny gruczołu sutkowego

Wydzielina niezapalna gruczołu sutkowego suk

W rozmazach wydzieliny niezapalnej gruczołu sutkowego suk widoczne były nieliczne komórki nabłonkowe oraz miejsca po kroplach tłuszczu wyekstrahowanych w procesie utrwalania i barwienia preparatu (ryc. 6).

Wydzielina zapalna gruczołu sutkowego suk

W rozmazach wydzieliny zapalnej gruczołu sutkowego suk widoczne były liczne komórki nabłonkowe, neutrofile oraz miejsca po kroplach tłuszczu wyekstrahowanych w procesie utrwalania i barwienia preparatu (ryc. 7).



Ryc. 6. Obraz mikroskopowy komórek wydzieliny niezapalnej gruczołu sutkowego suk. Widoczne komórki nabłonkowe oraz miejsca po kroplach tłuszczu. Objaśnienia: skala = 0,1 mm



- komórka nabłonkowa

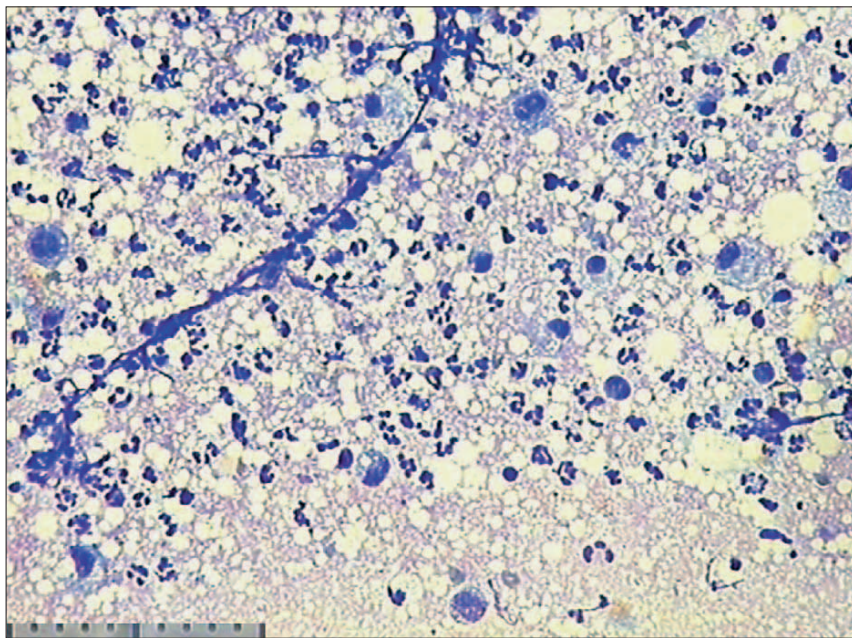


- miejsca po kroplach tłuszczu wyekstrahowane w procesie barwienia

Wyniki badania cytologicznego i bakteriologicznego próbek wydzieliny gruczołu sutkowego, pobranych w okresie laktacji poporodowej i ciąży urojonej w odniesieniu do oceny klinicznej sutków

W 6 próbkach wydzieliny, w których stwierdzono bakterie w ilości 1×10^2 jtk/ml nie wykazano liczby komórek somatycznych wskazującej na zapalenia gruczołu sutkowego. W tej grupie zwierząt nie stwierdzono również w badaniu klinicznym zaburzeń stanu zdrowotnego gruczołu sutkowego. W 22 próbkach, w których stwierdzono bakterie w ilości 1×10^3 jtk/ml w 2 (9,09%) wykazano liczbę komórek

somatycznych wskazujących na zapalenie sutka. W tej grupie suk nie stwierdzono jednak w badaniu klinicznym zaburzeń stanu zdrowotnego gruczołu sutkowego. W 36 próbkach, w których stwierdzono bakterie w ilości 1×10^4 jtk/ml w 4 (11,11%) wykazano liczbę komórek somatycznych wskazujących na zapalenia sutka. W tej grupie w badaniu klinicznym zaburzenie stanu zdrowotnego sutka zanotowano w jednym przypadku (2,78%). W 49 próbkach, w których wykryto bakterie w ilości 5×10^4 jtk/ml w 38 (77,55%) wykazano komórki somatyczne wskazujące na zapalenia sutka. W tej grupie w 5 przypadkach (10,20%) stwierdzono w badaniu klinicznym zapalenie sutka. W 32 próbkach,



Ryc. 7. Obraz mikroskopowy komórek wydzieliny zapalnej gruczołu sutkowego suki. Widoczne neutrofile, makrofagi, komórki nabłonkowe oraz miejsca po kroplach tłuszczu. Objaśnienia: skala = 0,1 mm



- makrofag



- neutrofile oraz miejsca po kroplach tłuszczu



- komórka nabłonkowa, neutrofile oraz miejsca po kroplach tłuszczu

w których wykryto bakterie w ilości 1×10^5 jtk / ml w 27 (84,37%), wykazano liczbę komórek somatycznych wskazujących na zapalenie sutka. W tej grupie w 9 przypadkach (27,89%) stwierdzono w badaniu klinicznym zaburzenia stanu zdrowotnego sutka. W 11 próbkach, w których stwierdzono bakterie w ilości 2×10^5 jtk / ml w 10 (90,90%), wykazano liczbę komórek somatycznych wskazujących na zapalenie sutka. W tej grupie u 7 zwierząt (66,67%) stwierdzono w badaniu klinicznym stan zapalny sutka. W 3 próbkach, w których wykryto bakterie w ilości 3×10^5 jtk / ml we wszystkich przypadkach wykazano liczbę komórek somatycznych wskazujących na zapalenie sutka, jak również w każdym przypadku w badaniu klinicznym stwierdzono objawy stanu zapalnego sutka (tab. 5).

Omówienie wyników

Choroby gruczołu sutkowego u suk, a w szczególności procesy o charakterze *mastitis*, stanowią istotny problem nie tylko w odniesieniu do zdrowotności suki, ale również ze względu na zdrowie i prawidłowy rozwój szczeniąt (1, 8, 9).

W organizmie podczas przebiegu procesu zapalnego, niezależnie od narządu, który jest tym procesem objęty, powstają mediatory zapalenia mające funkcje stymulujące, ale i w pewien sposób kontrolujące ten proces (13). Wspomniane mediatory

zapalenia stymulują między innymi zwiększoną migrację leukocytów, a w szczególności neutrofilów w obręb tkanki objętej zapaleniem. W klasycznym przebiegu procesu zapalnego wszystkim tym zmianom na poziomie komórkowym towarzyszą również zmiany makroskopowe – objawy kliniczne w postaci: zaczerwienienia, obrzęku, tkliwości tkanki, upośledzenia jej funkcji i miejscowego wzrostu temperatury (13). Taki klasyczny obraz zapalenia z ewidentnymi objawami klinicznymi z reguły nie stanowi dla lekarza problemu diagnostycznego, pod warunkiem przeprowadzenia rzetelnego badania klinicznego. Częściej jednak stan zapalny sutka przebiega w postaci podklinicznej, co w sposób jednoznaczny wynika z badań własnych i ma bezpośredni negatywny wpływ na zdrowie oraz prawidłowy rozwój miotu. Objawia się zaburzeniami ze strony przewodu pokarmowego szczeniąt oraz spadkiem dobowych przyrostów ich masy ciała. Skrajnie sytuacja taka może kończyć się upadkiem całego miotu. Takie dwa przypadki zanotowano w badaniach własnych. W czterech przypadkach, pomimo stwierdzenia u suk klinicznych cech stanu zapalnego przynajmniej jednego sutka (potwierzonego następnie w badaniu cytologicznym mleka), nie wykryto klinicznych objawów zaburzeń zdrowotności miotu. U dziesięciu badanych zwierząt, u których stwierdzono kliniczne cechy stanu zapalnego sutka

zanotowano również zaburzenia dotyczące zdrowia miotu, przy czym w dwóch przypadkach doszło do śmierci całego miotu. W tych przypadkach stwierdzono badaniem mikrobiologicznym obecność w wydzielinie sutka licznych bakterii *Staphylococcus aureus*.

W siedmiu przypadkach, pomimo wystąpienia zaburzeń zdrowotności miotu, nie stwierdzono klinicznych cech stanu zapalnego sutka u badanych zwierząt, jednak u czterech suk z wymienionej grupy obserwowano w badaniu cytologicznym cechy stanu zapalnego przynajmniej jednego z sutków. Te przypadki można sklasyfikować jako podkliniczne *mastitis*. To może też tłumaczyć, przynajmniej częściowo, zaburzenia zdrowotności miotu u tych suk. W pozostałych przypadkach przyczyny choroby szczeniąt mogły być innego tła. Interesujące były też wyniki własnych obserwacji, w których nawet ropne zapalenie sutka, w szczególności dotyczące pojedynczego sutka, nie dawało u suki wyraźnych objawów klinicznych, jak również zaburzeń zdrowotności miotu. Sytuacja taka mogła wynikać z faktu, iż suka broniła się przed pobieraniem mleka z gruczołu, który był bolesny, co zdecydowanie ograniczało możliwość przyjęcia mleka z chorego sutka przez szczenięta.

Jeżeli weźmiemy pod uwagę średnią liczbę komórek somatycznych w mililitrze wydzieliny gruczołu sutkowego w próbkach pochodzących od suk, będących w okresie laktacji poporodowej oraz wykazujących objawy ciąży urojonej, w których badaniem cytologicznym nie stwierdzono *mastitis*, liczba ta kształtowała się na poziomie $0,59 \pm 0,21 \times 10^6$. Analizując natomiast średnią liczbę komórek somatycznych w wydzielinie gruczołu sutkowego w próbkach, w których badaniem cytologicznym wykryto *mastitis*, liczba ta kształtowała się na poziomie $1,53 \pm 0,49 \times 10^6$ /ml. W tej grupie odpowiednio w przypadku laktacji poporodowej zawartość komórek somatycznych w mililitrze wydzieliny gruczołu wynosiła $1,74 \pm 0,55 \times 10^6$, a dla ciąży urojonej $1,31 \pm 0,29 \times 10^6$. Wyraźnie wyższa średnia zawartość komórek somatycznych w wydzielinie gruczołu sutkowego dla próbek pochodzących od suk będących w okresie laktacji poporodowej w porównaniu do ciąży urojonej wynika zapewne z faktu, iż właśnie w tej grupie zwierząt zdecydowanie częściej notowano stany o charakterze typowego ostrego *mastitis*. Obserwacje powyższe są podobne do danych przedstawianych w piśmiennictwie (2, 8, 14).

Przy ocenie stanu zapalnego sutka na podstawie badań cytologicznych jego wydzieliny nasuwa się bardzo istotne pytanie: jak interpretować wyniki badań cytologicznych niemieszczące się w górnej

granicy fizjologicznej liczby komórek somatycznych w mleku suk, lecz jeszcze nie przyjmujące wartości wskazującej ewidentnie na toczący się proces chorobowy? Szczególnie trudne w interpretacji są wyniki mieszczące się w przedziale powyżej 850 tys. komórek somatycznych/ml wydzielin. W tych przypadkach należy wziąć pod uwagę: możliwość występowania (przynajmniej w części z nich) początków procesu zapalnego, pobrania próbek wydzielin do badania cytologicznego w okresie remisji *mastitis* lub fizjologicznego wzrostu liczby komórek somatycznych na skutek obecności tzw. okresu przejściowego pomiędzy okresem siarowym a laktacją poporodową (8). Podobnie jak ma to miejsce u zwierząt gospodarskich, ocena cytologiczna wydzielin gruczołu sutkowego jako metoda klasyczna wydaje się obecnie metodą referencyjną w ocenie zdrowotności sutfków u suk (8, 14, 15).

Kolejnym niezmiernie istotnym aspektem zdrowotności gruczołu sutkowego suk jest status mikrobiologiczny wydzielin gruczołu sutkowego. W piśmiennictwie można spotkać dane mówiące o odsetku prób wydzielin gruczołu sutkowego pozytywnych mikrobiologicznie (liczba bakterii równa lub wyższa 1×10^2 /ml) pobranych od suk niewykazujących w badaniu klinicznym zaburzeń zdrowotności sutka, które to wahały się w przedziale od 17 do 37% (3).

W ramach badań i przebadanej populacji zwierząt, będących w laktacji poporodowej oraz wykazujących objawy ciąży urojonej uzyskano 40,35% próbek pozytywnych mikrobiologicznie. Wartość ta odnosi się zarówno do zwierząt klinicznie zdrowych, jak i takich, u których po przeprowadzeniu badania klinicznego rozpoznano *mastitis*. Odsetek próbek pozytywnych mikrobiologicznie w przebiegu laktacji poporodowej wynosił 43,31%, natomiast w ciąży urojonej kształtował się na poziomie 37,04%. Średnia wyższa wartość próbek pozytywnych mikrobiologicznie uzyskana w prezentowanych badaniach własnych w stosunku do danych literaturowych wynika z faktu, iż jak wcześniej wspomniano w badaniach ujęto zarówno zwierzęta zdrowe, jak i te, u których stwierdzono kliniczne objawy zapalenia sutka. Większa liczba próbek pozytywnych mikrobiologicznie stwierdzona w wydzielinie pochodzącej od suk w laktacji poporodowej w stosunku do ciąży urojonej może wynikać z faktu częstszego narażenia gruczołu na mikrouszkodzenia oraz urazy skóry sutka w czasie aktu ssania. Mikrouszkodzenia mogły stać się w tych przypadkach bramą wnikań drobnoustrojów, co naturalnie predysponowało sutek do zakażenia. W okresie poporodowym mamy również do czynienia

z procesem inwolucji i oczyszczania się macicy z wód płodowych. Zwiększona możliwość kontaktu tylnych sutfków z tą wydzieliną może być czynnikiem m. predysponującym je do zakażeń, tym bardziej iż często z próbek ich wydzielin (szczególnie w przypadkach zaburzeń okresu poporodowego u suk) izoluje się bakterie z rodzaju *Staphylococcus* (2, 8).

Warto zwrócić uwagę, iż w 89,94% próbek wydzielin gruczołu sutkowego obecne były bakterie Gram-dodatnie z rodzaju *Staphylococcus*. Wynik ten nie odbiegał zasadniczo od danych literaturowych (3). W ramach przeprowadzonych badań przedstawionych w tej pracy 17,61% populacji mikroorganizmów stanowił *S. hominis*. Stan taki wynikać może z tego, iż suk są zwierzętami towarzyszącymi, utrzymywanymi w ścisłym kontakcie z człowiekiem.

Staphylococcus aureus stanowił natomiast 11,96% populacji bakterii wyhodowanych z wydzielin sutfków. Patogen ten jest uznawany za główną przyczynę ostrych stanów zapalnych gruczołu sutkowego oraz śmiertelności szczeniąt (2, 8). W przebadanej populacji typowe kliniczne ostre zapalenia gruczołu sutkowego, w przypadkach w których wykryto jednocześnie w badaniu mikrobiologicznym

wydzielin gruczołu obfity wzrost *S. aureus*, zanotowano u dwóch suk będących w okresie laktacji poporodowej (jak wcześniej wspomniano doszło tutaj również do padnięcia całego miotu).

Prócz obecności samych mikroorganizmów w mleku, nie sposób nie wspomnieć o innych czynnikach mających istotny wpływ na pojawianie się choroby w danym narządzie lub tkance, a mianowicie:

- czynnikach immunosupresyjnych obniżających odporność ogólną lub miejscową, takich jak np. stres i leki,
- właściwościach samego szczepu bakteryjnego, a w szczególności obecności tzw. czynników chorobotwórczości,
- innych czynnikach predysponujących do zakażenia, jak np. uszkodzenia mechanicznych barier ochronnych organizmu (16).

Warto jeszcze dodatkowo zaznaczyć, iż w 12,24% próbkach, pomimo stwierdzenia procesu zapalnego w badaniu cytologicznym nie wykazano w wydzielinie obecności bakterii tlenowych. W tych przypadkach należy wziąć pod uwagę obecność innego czynnika chorobotwórczego (np. wirusa) lub zapalenia o charakterze aseptycznym.

Innym, zdecydowanie bardziej precyzyjnym kryterium, mówiącym o zdrowotności

Tabela 4. Średnia liczba komórek somatycznych w wydzielinie gruczołu sutkowego suk będących w okresie laktacji poporodowej oraz ciąży urojonej (liczba komórek została podana w 1×10^6 / ml wydzielin; n - liczba sutfków)

Lp.	Kategoria	Średnia liczba komórek somatycznych obecna w 1 ml wydzielin gruczołu sutkowego		
		laktacja poporodowa	cięża urojona	laktacja poporodowa oraz cięża urojona
1.	Próbki wydzielin niezapalnej	0,67 ± 0,19 (n = 156)	0,49 ± 0,18 (n = 141)	0,59 ± 0,21 (n = 297)
2.	Próbki wydzielin, w których badaniem cytologicznym wykryto <i>mastitis</i>	1,74 ± 0,55 (n = 49)	1,31 ± 0,29 (n = 48)	1,53 ± 0,49 (n = 97)
3.	Próbki ogółem	0,93 ± 0,55 (n = 205)	0,70 ± 0,42 (n = 189)	0,81 ± 0,51 (n = 394)

Tabela 5. Wyniki badania cytologicznego i bakteriologicznego próbek wydzielin gruczołu sutkowego suk pobranej w okresie laktacji poporodowej i ciąży urojonej w odniesieniu do oceny klinicznej sutfków u tych zwierząt.

Kategoria	Liczba bakterii w 1 ml wydzielin	Liczba próbek w kategorii	Liczba i procent próbek wydzielin w których w badaniu cytologicznym stwierdzono komórki somatyczne w ilości 1×10^5 / ml i więcej	Liczba i procent przypadków, w których klinicznie stwierdzono stan zapalny gruczołu sutkowego
1.	1×10^2	6	0 / 0	0 / 0
2.	1×10^3	22	2 / 9,09	0 / 0
3.	1×10^4	36	4 / 11,11	1 / 2,78
4.	5×10^4	49	38 / 77,55	5 / 10,20
5.	1×10^5	32	27 / 84,37	9 / 27,89
6.	2×10^5	11	10 / 90,90	7 / 66,67
7.	3×10^5	3	3 / 100	3 / 100

sutka jest określenie liczby mikroorganizmów w mililitrze wydzieliny gruczołu (3).

W przypadku próbek wydzieliny, w których uzyskano pozytywny wynik hodowli bakteriologicznej, przy dużej liczbie bakterii (1×10^5 jtk / ml), wyraźnie wyższy był odsetek próbek z podwyższoną ilością komórek somatycznych, jak i zwierząt klinicznie objawiających chorobę. Analizując zawartość mikroorganizmów w wydzielinie gruczołu sutkowego, nie można nie zauważyć wyraźnie kształtującej się zależności między liczbą bakterii w mleku a obecnością klinicznie manifestujących się stanów zapalnego sutka oraz stanów podklinicznych. Ta subtelna granica, przy której przypuszczalnie zaczyna się zachwianie homeostazy organizmu oscyluje w przedziale wartości 5×10^4 jtk / ml. W dostępnej literaturze jako granicę klinicznej zdrowotności sutka przyjęto uważać wartość 1×10^5 jtk / ml mleka (3). Należy jednak zwrócić uwagę, iż w przedziale zawartości bakterii wynoszącej 5×10^4 jtk / ml stwierdzono w badaniu cytologicznym bardzo znaczący wzrost próbek o podwyższonej liczbie komórek somatycznych oraz wzrost potwierdzonych klinicznie przypadków *mastitis*. Przy liczbie bakterii 3×10^5 / ml we wszystkich próbkach występowała podwyższona liczba komórek somatycznych i we wszystkich trzech przypadkach wystąpiły objawy kliniczne *mastitis*. Powyższe zależności obrazują wartość badania cytologicznego i bakteriologicznego, które pozwalają wykryć oraz potwierdzić stan zapalny o charakterze klinicznym i podklinicznym. Uzyskane wyniki wykazały stosunkowo częste występowanie podklinicznych postaci *mastitis* u suk.

Wnioski

1. W wydzielinie gruczołu sutkowego suk można stwierdzić obecność bakterii zarówno w przypadkach braku uchwytnych zmian klinicznych, jak i w ewidentnych stanach *mastitis*. Odsetek próbek wydzieliny gruczołu sutkowego, w których stwierdzono liczbę bakterii 1×10^2 jtk / ml i powyżej w przypadku laktacji poporodowej, wyniósł 43,41%, natomiast w ciąży urojonej 37,04%.
2. Liczba bakterii, wynosząca 5×10^4 jtk / ml wydzieliny gruczołu sutkowego może wskazywać na podkliniczne stany zapalenia sutka, aczkolwiek przy tej liczbie bakterii w pojedynczych przypadkach (10,2% przypadków) występowały kliniczne objawy *mastitis*.
3. Dominującymi mikroorganizmami w wydzielinie gruczołu sutkowego u suk są gronkowce; stanowiły one 89,94% wszystkich bakterii izolowanych z wydzieliny gruczołu.
4. Ocena cytologiczna wydzieliny gruczołu sutkowego suk, pomimo znacznej czaso- oraz pracochłonności pozostaje obecnie metodą referencyjną w wykrywaniu *mastitis* u tego gatunku zwierząt. Wysoka liczba komórek somatycznych koreluje ze wzrostem liczby bakterii w wydzielinie sutków oraz wzrostem odsetka przypadków *mastitis* manifestujących się klinicznie.

Piśmiennictwo

1. Walser K., Henschelchen O.: Beitrag zur Ätiologie der akuten Mastitis der Hündin. *Berl. Münch. Tierärztl. Wsch.* 1983, **96**, 195-197.

2. Bostedt H., Gajewski Z., Boryczko Z.: Schorzenia gruczołu mlekowego u suk i kotek. *Nowa Wet.* 1996, **1**, 53-57.
3. Kuhn G., Pohl S., Hingst V.: Erhebung zum bakteriologischen Gehalt der Milch von klinisch unauffälligen laktierenden Hündinnen einer Versuchshundezucht. *Tierärztl. Wochr.* 1991, **104**, 130-133.
4. Bjurstorm L.: Aerobic bacteria occurring in the vagina of bitches with reproductive disorders. *Acta Vet. Scand.* 1993, **34**, 29-34.
5. Kass E.H.: Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract. *Arch. Intern. Med.* 1957, **100**, 709-714.
6. Brooks B.W., Barnum D.A.: Experimental colonization of the bovine teat duct with *Corynebacterium bovis* and the effect on milk somatic cell counts. *Can. J. Comp. Med.* 1984, **48**, 141-148.
7. Simson D.: Mammatumoren des Hundes, Diagnostik und Therapie *Tierärztliche Praxis* 2001, **29**, 47-50.
8. Wendt. K.H., Bostedt H., Mielke H.W.: *Gasauegenkheiten bei Hund und Katze. W Euter und Gasauegenkheiten.* G. Fischer Verlag, Jena 1994, s. 503-508.
9. Max A.: Wybrane zagadnienia neonatologii weterynarnej – szczeniata. *Życie Wet.* 2001, **76**, 414-417.
10. Hecker B.R., Bostedt H.: Nieinfekcyjne schorzenia szczeniąt. *Materiały VI Polsko-Niemieckiego Sympozjum z zakresu Fizjologii i Patologii Rozrodu Zwierząt*, Warszawa 2000, s. 37-40.
11. Hasegawa T., Fujii M., Fukada T., Tsuji C., Fujita T., Goto Y., Shinyo T., Ogawa H.: Platelet abnormalities in a dog suffering from gangrenous mastitis by *Staph. aureus* infection. *J. Vet. Med. Sci.* 1993, **55**, 169-171.
12. Seweryn T., Boryczko Z.: Wartość badania ultrasonograficznego w ocenie zapalenia sutków u suk. *Życie Wet.* 2008, **83**, 585-590.
13. Fitko R., Kądziołka A.: *Patofizjologia zwierząt.* PWRiL, Warszawa 1994, s. 125-150.
14. Dziecioł M., Twardoń J., Stefaniak T.: Diagnostyka stanów zapalnych gruczołu sutkowego u suk. *Zaburzenia w rozrodzie zwierząt wysokoprodukcyjnych.* Wydawnictwo PIW Puławy 2003, s. 66-70.
15. Olson P.N., Olson A.L.: Cytologic evaluation of canine milk. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 1984, **79**, 641-646.
16. Szymańska K., Bunek J.: Charakterystyka mechanizmów chorobotwórczości gronkowców. *Medycyna Wet.* 1999, **55**, 590-594.