

ta i zmieniona nowotworowo macica. Zmiany nowotworowe przedstawiały się w postaci guza o nierównej powierzchni i osiągnęły wagę 34 kg (ryc. 1). Guz na przekroju miał barwę szaro-żółto-czerwoną z licznymi wylewami krwi i konsystencję zróżnicowaną od wiotkiej do jędrnej. W pozostałych narządach wewnętrznych nie stwierdzono zmian patologicznych.

Do badań histologicznych pobrano wycinki z różnych miejsc guza, które utrwalono w 10% obojętnym formolu. Wykonane skrawki parafinowe zabarwiono hematoksyliną i eozyną oraz metodą Van Giesona. W obrazie histologicznym utkanie nowotworu stanowiły komórki zrębu macicy różnej wielkości, o skąpej cytoplazmie ułożonej na obrzeżu jąder (ryc. 2). Jądra komórkowe charakteryzowały się różną barwnością i wielkością. W licznych jądrach obserwowano figury podziału. W wielu miejscach guza obok monotonii tkanki czasem widoczny był znaczny polimorfizm komórkowy i nierównomierne skupienie komórek. Nie obserwowano obecności gruczołów macicznych, w niektórych tylko miejscach ledwie widoczne były ich zarosy. W licznych przekrojach guza występowały wy-

lewy krwi. Nabłonek błony śluzowej macicy był w wielu miejscach zachowany, ulegał znacznemu ścięczeniu i pokrywał zmienioną nowotworowo ścianę macicy.

Na podstawie analizy zmian anatomo- i histopatologicznych przedstawiony nowotwór macicy u kłaczy posiada cechy znacznej złośliwości i można określić go jako mięsaka zrębu (*sarcoma stromale*).

Piśmiennictwo

1. Bostock D. E., Owen L. N.: Neoplasia in the cat, dog and horse. Wolfe Medical Publications Ltd, London 1975.
2. Dow C.: J. comp. Path. 70, 59, 1970.
3. Houszka M., Kaszubkiewicz Cz.: Medycyna Wet. 25, 6, 1969.
4. Mc Entee K., Nielsen W. S.: Bull. Wild Hlth Org. 53, 217, 1976.
5. Moulton J. E.: Tumors in domestic animals. Univ. Calif. Press, 1961.
6. Sereda J.: Medycyna Wet. 41, 274, 1985.

Adres autora: dr Zbigniew Nozdrzyn-Plotnicki, ul. Leszetyckiego 6/12, 20-861 Lublin

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

WOJCIECH NOWACKI, JERZY MOLENDĄ*, TADEUSZ STEFANIAK,
ANNA CHEŁMOŃSKA, MARIA NIKOŁAJCZUK

Izolacja *Haemophilus somnus* z dróg rodnych krów*)

Zakład Immunologii, Immunogenetyki i Prewencji Neonatalnej
Katedry Patofizjologii Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. C. Norwida 31, 50-375 Wrocław
*Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. H. Rodakowskiego 6, 51-637 Wrocław

Występowanie *Haemophilus somnus* w zwłokach cieląt padłych wśród objawów zapalenia płuc zostało w kraju potwierdzone bakteriologicznie w 1980 roku (9). Obecny opis po raz pierwszy dokumentuje występowanie tego drobnoustroju w przedsionku pochwy i szyjce macicy krów z obory, w której notowano zaburzenia w rozrodzie przypominające zakażenia dróg rodnych pałeczką *Haemophilus somnus* (8, 11, 12). Infekcje takie były w różnych krajach rozpoznawane bakteriologicznie w przypadkach terenowych (7, 8) oraz wywoływane doświadczalnie (5, 6, 12), w celu zbadania roli tego drobnoustroju w patologii układu rozrodczego krów. Po doszyjkowym zakażeniu jałówek w czasie rui, przed upływem 24 godzin pojawia się zaczerwienienie błony śluzowej przedsionka pochwy i dość obfity wyciek śluzowo-ropny, który utrzymuje się przez około 14 dni. Kolejnej rui towarzyszy ponowne pojawienie się wycieku; jego ilość jest z reguły zwiększona i nasilają się objawy zapalenia miejscowego. Niemal identyczny obraz obserwowano u krów w terenie, m.in. w oborze gospodarstwa K, w okolicy Wrocławia.

Materiał i metody

Opis obiektu: obora w budynku tradycyjnym, wiewięziowa, ściółkowa, licząca 96 sztuk, w tym 89 krów i 7 cielnych jałowic. Zwierzęta rasy ncb, około 15% były to krzyżówki z rasą holsztyno-fryzyjską. Średnia wydajność mleczna wynosiła 4123 litry. W sąsiedztwie obory znajduje się bukiarnia na 240 sztuk. Okres międzyciążowy w latach 1985/86 wynosił średnio 177 dni; wydarzyły się cztery poronienia, jedno w ósmym miesiącu ciąży. Wszystkie cztery krowy przeszły zapalenie macicy.

W latach 1984/85 stosowano oprócz unasienniania krycie naturalne przydzielonym przez SHiUZ buhajem, u którego w trzykrotnym badaniu bakteriologicznym nasienia i wyplączyn napletka, wykonanym w odstępie 2 tyg., nie stwierdzono obecności *Haemophilus somnus*; natomiast surowica tego buhaja wykazywała miano aglutynacyjne 1:32.

Od dłuższego czasu obserwowano u krów w tej oborze wypływy z dróg rodnych, pojawiające się w kilka do kilkunastu godzin po unasiennianiu lub kryciu. Od wszystkich krów pobrano do badań bakteriologicznych wymazy z przedsionka pochwy i zewnętrznego ujścia szyjki macicy oraz krew, w celu oznaczenia miana przeciwciał anti-*H. somnus*, określenia ilości białka całkowitego i jego frakcji oraz stwierdzenia obecności białka HRP (Haemoglobin reactive protein).

Wymazy pobrano od wszystkich krów z okolicy ujść gruczołów przedsionkowych większych i z zewnętrznego ujścia szyjki macicy, dwukrotnie, między 7 października a 18 listopada 1986. Termin pobierania wymazów nie był więc dostosowany do fazy cyklu

*) Praca wykonana w problemie CPBP 05.06., 2.2.1.

rujowego poszczególnych zwierząt. Od krów, u których w pierwszym badaniu stwierdzono pałeczkę *H. somnus*, pobrano wymazy jeszcze dwukrotnie, po upływie 2 i 3 tygodni oraz ponownie od całego stada po miesiącu.

Krew do badań serologicznych i dla oznaczenia frakcji białka i HRP pobrano jednorazowo, przy pierwszym pobraniu wymazów.

Badania bakteriologiczne: w 3—4 godz. po pobraniu wymazów wysiewano je na podłoża agarowe z 10% dodatkiem krwi wołowej, z których jedno inkubowano w atmosferze mikroaerofilnej (10% CO₂), drugie natomiast w warunkach normalnych, przez 48 godz. w temp. 37°C.

Kolonie bakterii wyrastające jedynie w warunkach mikroaerofilnych, podobne do kolonii *H. somnus*, namnażano i określano ich właściwości fizjologiczne i biochemiczne, posługując się zestawem testów API 20E (Francja).

Badania serologiczne: właściwości antygenowe namnożonych bakterii oznaczano posługując się odczytnym mikroaglutynacją płytowej (9) wobec surowicy referencyjnej anti-*H. somnus* 6023 CCM. Miano przeciwciał anti-*H. somnus* w surowicach badanych krów oznaczano metodą mikroaglutynacji płytkowej (9).

Badania białek surowicy: rozdział elektroforetyczny wykonano w standardowych warunkach, w buforze werońalowym pH 8,6, na bibule Whatman 1; białko całkowite oznaczono metodą biuretową, a obecność HRP kontrolowano metodą dyfuzji w żelu agarowym, stosując próbę benzydynamową dla wykrycia właściwości peroksydazowych kompleksu Hb—HRP.

Wyniki i omówienie

Częstość izolowania *H. somnus* z narządu rozrodczego krów w badanej oborze podano w tab. 1 i 2, a wyniki badań serologicznych i elektroforetycznych surowicy w tab. 3.

Obecność *H. somnus* została stwierdzona w drogach rodnych 15 (15,6%) spośród 96 badanych krów. W kilkakrotnych kontrolach materiału pobranego od krów z badanego stada, wyosobniono 30 szczepów *H. somnus*. Zdecydowanie częściej izolowano zarazek z przedsionka pochwy (10,6% wymazów), niż z szyjki macicy (3,9% wymazów). Drobnoustrój obecny był w przedsionku pochwy wszystkich ujawnionych nosicieli, natomiast w szyjce macicznej stwierdzony był jedynie u pięciu z nich. Wyniki posiewów wskazują ponadto na znacznie mniejsze, w porównaniu z przedsionkiem pochwy, zanieczyszczenie bakteryjne błony śluzowej szyjki macicy, o czym świadczy brak wzrostu bakterii z 70,5% wymazów z szyjki, wobec ujemnych tylko 25,6% wymazów z przedsionka (tab. 1).

Wszystkie wyosobnione szczepy wykazały charakterystyczne dla *Haemophilus somnus* właściwości fizjologiczne i biochemiczne oraz były aglutynowane przez surowicę referencyjną. Wszystkie szczepy wymagały do wzrostu dodatku krwi wołowej do podłoża oraz atmosfery o zwiększonej zawartości CO₂ (10%), natomiast nie potrzebowały czynników wzrostowych X i V. Wszystkie wytwarzały oksydazę cytochromową, natomiast żaden nie syntetyzował H₂S, ureazy, acetoiny, katalazy, indolu ani żelatyny. Tylko nieliczne (cztery) produkowały dekarboksylazy lizyny i ornityny, a przeciwnie

do obserwacji poczynionej w badaniach wcześniejszych (10) tylko dwa wytwarzały dihydrolazę argininy, która to zdolność odróżniała szczepy wyosobnione z zapaleń dróg rodnych od powodujących zapalenie płuc u cieląt. Ponadto wszystkie szczepy fermentowały glukozę, a zdecydowana większość mannitol, sorbitol, inozytol i melecytozę; jedynie trzecia ich część utylizowała ramnozę, salicynę, amygdalinę, arabinozę i syntetyzowała reduktazę azotanową. Żaden z wyosobnionych szczepów nie syntetyzował beta-galaktozydazy, a tylko nieliczne fermentowały sacharozę.

Badanie powtarzalności izolacji zarazka od nosicieli w kilku kolejnych posiewach, nie przyniosło jednoznacznych wyników (tab. 2).

Po upływie 2 tygodni *H. somnus* wyosobniono jedynie od połowy dotychczas wykrytych nosicieli; od pozostałych — izolowano ten drobnoustrój po dalszych siedmiu dniach. Powtórne badanie całego stada, wykonane w miesiąc po pierwszym, ujawniło siedmiu nowych nosicieli. Z poprzednio wykrytych siewców tylko jeden wykazał ponownie obecność *H. somnus* (tab. 2 krowa nr 56).

Brak regularności izolacji może być rezultatem zarówno niedoskonałości stosowanej metody izolowania (w tym także przerostu podłoża przez *Proteus*), jak i zmian zachodzących w błonie śluzowej dróg rodnych w czasie cyklu rujowego. U sześciu krów zauważono łagodne, grudkowe zapalenie błony śluzowej pochwy, ale wynik posiewu wymazów od tych krów był ujemny. Jedna krowa cielna miała szyjkę maciczną otwartą i krwawą wydzielinę wokół zewnętrznej jej ujścia, a *H. somnus* obecny był w wymazie z przedsionka pochwy.

Badanie bakteriologiczne ujawniło dość znaczny odsetek 15,6% nosicieli *H. somnus* w badanym stadzie. Jeszcze wyższy procent nosicieli stwierdzili Slee i wsp. (13), którzy w podobnych badaniach wykazali 28,6% siewców. Badacze ci opracowali podłoża selektywne, które jednak — jak to wykazały badania porównawcze — nie zwiększyło częstości izolacji.

W przeprowadzonych badaniach zwraca również uwagę fakt stosunkowo częściej obecności w drogach rodnych maczugowców ropnych; stwierdzono je u 22 krów. Podobnie jak to było w przypadku izolowania *H. somnus*, również maczugowce wyosobniano znacznie częściej z przedsionka pochwy, niż z szyjki macicy (tab. 1). Od czterech krów wyhodowano *Corynebacterium pyogenes* łącznie z *Haemophilus somnus*, co wg Fishera (3) jest zjawiskiem stosunkowo częstym w zakażeniach rozwijających się w drogach rodnych w wyniku synergistycznego działania tych drobnoustrójów.

Jak wynika z danych tab. 3, w surowicach krów występowały znaczne wahania osobnicze koncentracji białka całkowitego i frakcji białka. Wskazuje to na zróżnicowanie stanu zdrowia zwierząt, wśród których prawie 14% wy-

Tab. 1. Wyniki badań bakteriologicznych kolejnych wymazów z dróg rodnych 96 krów

Miejsce izolacji	Liczba (%) wymazów			<i>H. somnus</i>		<i>H. somnus</i> + <i>C. pyogenes</i>		<i>C. pyogenes</i>	
	ogółem	brak wzrostu	przerodzone	liczba (%)		liczba (%)		liczba (%)	
				izolacji	krów	izolacji	krów	izolacji	krów
Przedsionek pochwy i szyjka macicy ^a	414	92 (22,2)	0	4+4 ^b (1,9)	3 (3,1)	0	0	6+6 ^b (2,9)	6 (6,2)
Przedsionek	207	53 (25,6)	5 (2,4)	22 (10,6)	15 (15,6)	4 (1,9)	4 (4,2)	21 (10,1)	20 (20,8)
Szyjka	207	146 (70,5)	2 (1,0)	8 (3,9)	5 (5,2)	0	0	1 (0,5)	1 (1,0)
Razem:	414	199 (48,1)	7 (1,7)	32 (7,2)	15 ^c (15,6)	4 (1,0)	4 (4,2)	24 (8,2)	22 ^c (22,9)

Objaśnienia: a — w tym samym badaniu, b — izolacje w pobraniach powtórzonych w odstępach tygodniowych, c — rubryka podaje liczbę krów, u których stwierdzono *H. somnus*; liczba ta nie jest sumą danych z rubryk poprzedzających, ze względu na przemienne izolowanie zarazka z wymazów pobranych w różnych badaniach tych samych krów.

Tab. 2. Nosicielstwo *Haemophilus somnus* w drogach rodnych krów

Badanie	Miejsce izolacji	Krowy, od których wyisobniono <i>H. somnus</i> (numery zwierząt)														
		6	16	42	46	52	53	56	80	18	35	43	45	48	55	57
I	P	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	S	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ia	P	-	-	-	-	+	+	-	-	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
	S	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ib	P	+	+	-	+	+	-	-	+	nb	nb	nb	nb	nb	nb	nb
	S	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
II	P	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	S	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Objaśnienia: I, II — badania wszystkich krów w oborze, Ia, Ib — kolejne badania nosicieli wykrytych w badaniu I wykonane po 2 i 3 tyg., P — przedsionek pochwy, S — szyjka macicy, nb — nie badano, (+) — izolowano *H. somnus*, (-) — nie izolowano *H. somnus*.

Tab. 3. Białko całkowite i frakcje białka w g/100 ml oraz wysokość miana anty-*H. somnus* u krów w oborze K (n=96)

Białko całkowite	Albuminy	Globuliny			Miano aglutynin anty- <i>H. somnus</i> n (%)				HRP n (%)
		alfa	beta	gamma	1:4	1:8	1:16	1:32	
6,64 (6,24— 11,32)	2,41 (2,05— 4,83)	0,75 (0,65 1,44)	0,55 (0,51 1,62)	1,47 (1,31 5,05)	3 (3,2)	19 (21,5)	53 (62,2)	13 (13,9)	13 (13,9)
					(24,7)		(76,1)		

kazało obecność białka ostrej fazy zapalnej (HRP). Zwraca także uwagę niska średnia zawartość białka całkowitego — następstwo niskiej koncentracji albumin.

Kształtowanie się miana anty-*H. somnus* okazało się charakterystyczne dla stad liczących wiele sztuk (2), ponieważ większość surowic (76%) reagowała w rozcieńczeniach 1:16 i wyższych, co świadczy o uaktywnieniu zarazka w danym środowisku (2).

Haemophilus somnus jest stwierdzany na błonach śluzowych górnych dróg oddechowych, przedsionka pochwy, worka napletkowego u zwierząt klinicznie zdrowych (4), może więc być zaliczony do normalnej flory bakteryjnej błon śluzowych. Ale drobnoustrój ten izolowano także w czystym lub dominującym wzroście w posiewach z różnych narządów cieląt padłych w powodu chorób zaliczanych do tzw. zespołu *Haemophilus somnus* (1), z łożyska i pronio-

nych płodów, z wycieków w toku ropomacicza, od krów powtarzających, z nasienia i wypłuczyn napletka buhajów używanych do rozrodu (4), u których stwierdzono pogorszenie jakości nasienia (14). Patterson i wsp. (11) stwierdzili, że *H. somnus* był przyczyną zapalenia pochwy i macicy w stadzie jałówek, wśród których izolowano ten drobnoustroj w 25% przypadków. Doświadczalne zakażenie doszyjkowe jałówek żywą hodowlą *H. somnus* pozwoliło odtworzyć klinicznie przebieg zapalenia miejscowego, obserwowany w przypadkach terenowych i wykazać szkodliwy wpływ tej bakterii na rozwój zarodka (5).

Patogenna rola *Haemophilus somnus* w schorzeniach układu rozrodczego bydła i w zaburzeniach rozrodu jest więc wykazywana równie przekonująco, jak w chorobach cieląt (1). Jego znaczne rozprzestrzenienie i charakter nosicielstwa narządowego (26% izolacji z pęcherza moczowego bukatów, 71% izolacji z jamy napletka (4), stwarza duże niebezpieczeństwo stacjonarnej infekcji w obiektach chowu bydła. Trzeba z tym liczyć się zwłaszcza wtedy, gdy sąsiadują ze sobą budynki o różnym przeznaczeniu, np. bukiarnia obok obory z cielętnikiem, jak to było w badanym przez nas gospodarstwie.

Haemophilus somnus jest oportunistycznym drobnoustrojem błon śluzowych, więc przejście infekcji podklinicznej w jawną zależy głównie od osłabienia miejscowych mechanizmów obronnych układu rozrodczego.

Można przewidywać, że rozszerzanie się infekcji zagraża przede wszystkim bydłu w obiektach słabych organizacyjnie i zaniedbanych pod względem zoohigienicznym i sanitarno-weterynaryjnym, w których codziennością są kłopoty z paszą, wodą, pasożytami zewnętrznymi, z warunkami mikroklimatu budynków. Optymalizacja warunków chowu bydła jest więc koniecznością, ponieważ tylko w dobrych warunkach mogą należycie działać mechanizmy obronne, którymi zwierzęta dysponują.

Wnioski

1. Infekcja błony śluzowej dróg rodnych krów pałeczkę *Haemophilus somnus* może dotyczyć znacznej liczby krów w stadzie.
2. Jednorazowe badanie bakteriologiczne nie jest miarodajne dla orzekania o stopniu nosicielstwa.
3. Niewłaściwe warunki chowu bydła sprzyjają utrzymywaniu się *Haemophilus somnus* w obiekcie i zakażaniu nowych osobników.

Piśmiennictwo

1. Balbierz H., Nikolaiczuk M.: Medycyna Wet. 36, 595, 1980.
2. Balbierz H., Nowacki W., Molenda J., Nikolaiczuk M.: Medycyna Wet. 41, 272, 1985.
3. Fischer W.: Vergleichende Untersuchungen bei Rindern mit und ohne Endometritis unter besonderer Berücksichtigung von Schleimhautabstrichen. Praca dokt., Univ. Zürich, 1977.
4. Humphrey J. D., Little P. B., Stephens L. R., Barnum D. A., Doig P. A., Thorsen J.: Am. J. vet. Res. 43, 791, 1982.

5. Kaneene J. B., Morrow D., Coe P., Gibson C., Yamini B., Martinez R.: 14th World Congress on Diseases of Cattle, Dublin, 955, 1986.
6. Miller R. B., Barnum D. A.: Vet. Pathol. 20, 584, 1983.
7. Miller R. B., Barnum D. A., McEntee K. E.: Vet. Pathol. 20, 515, 1983.
8. Miller R. B., Lein D. H., McEntee K. E., Hall C. E., Shin S.: J. Am. vet. med. Ass. 182, 1390, 1983.
9. Molenda J., Kozyrzyk J.: Medycyna Wet. 36, 209, 1980.
10. Molenda J., Sobiech E.: 9th Int. Symp. Wild Ass. Vet. Microbiol. Immun. Spec. Infect. Dis., Perugia, 9-11 October, 1986.
11. Patterson R. M., Hill J. F., Shiel M. J., Humphrey J. D.: Aust. Vet. J. 61, 301, 1984.
12. Patterson R. M., Mitchell G., Humphrey J. D., Stephens L. R.: Aust. Vet. J. 63, 163, 1986.
13. Siec K. J., Stephens L. R.: Vet. Rec. 116, 215, 1985.
14. Stefaniak T., Molenda J., Króński J., Chełmońska A.: Medycyna Wet. (oddane do druku).

Adres autora: dr Wojciech Nowacki, ul. Gersona 21/9, 51-664 Wrocław

Новацкий В., Моланда Я., Стефаниак Т., Хелмоньская А., Николайчук М. — **Изоляция *Haemophilus somnus* из половых путей коров**

Провели бактериологические исследования (два раза с месячным перерывом) мазков из преддверия влагалища и шейки матки 96 коров. В сыворотке этих животных определили титр антител анти-*Haemophilus somnus*, общий протеин и его фракции, а также протеин острой воспалительной стадии HRP (Haemoglobin reactive protein). От коров, у которых в первом исследовании обнаружили палочку *Haemophilus somnus*, мазки были взяты ещё двукратно через 2 и 3 недели. Обнаружили наличие *H. somnus* в половых путях 15 (15,6%) коров. В исследованиях стада выделили всего 30 штаммов. Микроб из преддверия влагалища был изолирован (10,6% мазков) намного чаще, чем из шейки матки (3,9% мазков). Установили отсутствие регулярной изоляции.

Титр анти-*H. somnus*, исследуемый в сыворотке, оказался характерным для больших стад, так как большинство сывороток (76%) реагировало в растворах 1:16 и выше, что и свидетельствует об активности микроба в этой среде. Значительные индивидуальные колебания концентрации общего протеина и его фракции указывают на дифференциацию состояния здоровья животных, среди которых почти 14% показало наличие протеина HRP.

Nowacki W., Molenda J., Stefaniak T., Chełmońska A., Nikolaiczuk M. — **The isolation of *Haemophilus somnus* from the genital tracts of cattle**

Bacteriological examination of the smears from the vaginal vestibule and uterine cervix of 96 cows were carried out (2 times in 1 month interval). The agglutination titer against *H. somnus*, the level of total protein, protein fractions and the presence of acute — phase protein HRP (Haemoglobin reactive protein) were determined in sera of these animals. Bacteriological positive cows were reexamined in the 2nd and 3rd week after the first examination.

The presence of *H. somnus* was found in the reproductive tract of 15 cows (15.6%). In this herd 30 strains of *H. somnus* were isolated in total. This bacterium was isolated from the vaginal vestibule more frequently (10.6% smears) than from uterine cervix (3.9% smears). The irregularity of isolation was found. The titer against *H. somnus* examined in serum proved to be characteristic for herds of many animals, as most sera (76%) were active in the dilutions 1:16 and higher; it indicates bacterium activation in this environment.

Considerable individual variations in the concentration of total protein and protein fractions indicate differentiation of health state of the examined animals, among them almost 14% showed the presence of HRP.