

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

JOZEF PILASZEK

Występowanie drobnoustrojów *Mycoplasmatales* w narządzie rozrodczym u bydła.

II. Izolacja szczepów od krów

Zakład Mikrobiologii Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

W pierwszym etapie pracy (13) mającej na celu określenie stopnia infekcji drobnoustrojami *Mycoplasmatales* w narządach rozrodczych bydła, do badań użyto buhajów, u których występowały objawy zapalenia błony śluzowej nąpletka i prącia. Od zwierząt tych izolowano drobnoustroje *Mycoplasmatales*, a otrzymane wyniki porównano z wynikami izolacji tych zarazków od buhajów zdrowych. Z przeprowadzonej analizy wyników można było sądzić, że ureaplazmy należy brać pod uwagę w ustaleniu czynnika etiologicznego obserwowanego schorzenia.

Podobnie jak u buhajów u krów występuje schorzenie, które określa się jako grudkowe zapalenie sromu i pochwy — granular vulvovaginitis (GVV) zwane inaczej nodular venereal disease (1) lub vulvovaginitis syndrome (19). Schorzenie to objawia się najpierw niewielkim zaczerwienieniem błony śluzowej sromu i pochwy. Następnie pojawiają się różnej wielkości wybroczyny, które mogą układać się w pasemka. W dalszej fazie schorzenia na błonie śluzowej tworzą się grudki wielkości główki szpilki lub nieco większe. Grudki te początkowo są blade i połyskujące, a następnie przekrwione. Podobnie jak u buhajów opisane objawy mogą samoistnie ustępować, a po jakimś czasie pojawiać się na nowo. W stadzie dotkniętym tym schorzeniem chorują wszystkie krowy lub pewien ich odsetek. Etiologia GVV nie została jeszcze dostatecznie poznana. Ponieważ badania wirusologiczne wykluczają w większości przypadków infekcję wirusową, w tym również infekcję wirusem IPV, a objawy ustępują po zastosowaniu kuracji tymi antybiotykami, na które z reguły wrażliwe są drobnoustroje *Mycoplasmatales*, istnieje przypuszczenie, że czynnikiem etiologicznym mogą być wymienione zarazki. Za tym ostatnim przemawiają badania autorów zagranicznych, polegające na udanym eksperymentalnym wywołaniu GVV szczepami *Ureaplasma* oraz inne doniesienia (1, 18) wskazujące na udział w etiologii tego schorzenia gatunków *Mycoplasma*.

Biorąc powyższe pod uwagę wykonano badania, których celem było ewentualne wykazanie drobnoustrojów *Mycoplasma* i *Ureaplasma* w

narządach rodnych krów z objawami GVV. W badaniach tych zachowano podobny jak poprzednio (13) układ doświadczenia, porównując wyniki izolacji tych zarazków od zwierząt chorych i zdrowych. Próbowano również wyjaśnić sposób szerzenia się infekcji w stadzie.

Materiał i metody

Podłoża oraz izolację drobnoustrojów z rodzajów *Mycoplasma* i *Ureaplasma* wykonano jak w pracach poprzednich (11, 12, 13).

Zwierzęta doświadczalne. Do badań użyto materiału pochodzącego od 212 krów i 2 buhajów. W badaniach wstępnych przebadano 66 wymazów pobranych z pochwy krów, u których występowały objawy kliniczne GVV w postaci przekrwienia w różnym nasileniu, wybroczyn oraz grudkowych zmian zapalnych sromu i pochwy. Opisane zmiany występowały u około 80% zwierząt w stadzie. Badane krowy pochodziły z trzech różnych gospodarstw. Użyto również 30 wymazów z pochwy krów pochodzących ze stada, w którym u większości zwierząt występowały objawy kliniczne charakterystyczne dla GVV. Do badań pobrano wymazy od krów z najmniej zaznaczonymi objawami klinicznymi lub od krów bez tych objawów. Grupę kontrolną stanowiły krowy zdrowe w liczbie 15 zwierząt.

Następne próby izolacji drobnoustrojów *Mycoplasmatales* wykonano z 40 wymazów pobranych z pochwy krów krytych przez buhaja, z nasienia którego wyosobniono mykoplazmy i ureaplazmy. Badano też wymazy pobrane od 50 krów unasiennianych nasieniem drugiego buhaja zawierającym tylko ureaplazmy. U około 80% zwierząt należących do tych grup występowały objawy charakterystyczne dla grudkowego zapalenia sromu i pochwy. Grupę kontrolną stanowiło 11 jałówek w wieku około 18 miesięcy, które nie były kryte, ani też inseminowane.

Wyniki i omówienie

W pracy poprzedniej (13) wykazano, że w Polsce w dużym odsetku buhaje zakażone są drobnoustrojami *Ureaplasma*, natomiast infekcje szczepami *Mycoplasma* występują znacznie rzadziej. Stwierdzono też, że odsetek zakażonych zwierząt oraz koncentracja zarazków w 0,1 ml nasienia są wyższe u zwierząt z klinicznymi objawami zapalenia błony śluzowej nąpletka i prącia niż u buhajów zdrowych.

Ponieważ podobne objawy kliniczne, występujące na zewnętrznych narządach płciowych buhajów, stwierdzane są również na narządach

Tab. 1. Wyniki izolacji drobnoustrojów *Mycoplasmatales* z pochwy krów z objawami *vulvovaginitis granularis*

Gospodarstwo	Liczba zwierząt badanych	Rozcieńczenia w których nastąpił wzrost				Wynik dodatni	
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	liczba zwierząt	%
I	48	U	34	28	21	35	72,9
		M	1	0	0	1	2,1
II	10	U	8	8	8	8	80,0
		M	—	—	—	0	0
III	8	U	5	5	5	5	62,5
		M	1	1	1	1	12,5
Srednio	66	U	47	41	32	48	72,7
		M	2	1	1	2	3,0
IV	30*	U	16	13	4	16	53,3
		M	—	—	—	0	0
V	15**	U	2	1	—	2	13,3
		M	—	—	—	0	0

Objaśnienia: U = rodz. *Ureaplasma*, M = rodz. *Mycoplasma*, * = u krów występowały mało widoczne zmiany zapalne błony śluzowej pochwy, ** = krowy zdrowe, — = brak wzrostu.

płciowych krów, można przypuszczać, że istnieje wspólny czynnik etiologiczny tego schorzenia i może on być przenoszony podczas krycia lub inseminacji. Celem wyjaśnienia tego zagadnienia wykonano kolejne badania zmierzające — w obecnej pracy — do izolacji drobnoustrojów *Mycoplasmataceae* z narządu rozrodczego krów.

W pierwszym etapie przebadano 66 krów z objawami GVV (grupy I, II i III), 30 krów pochodzących z obory, w której schorzenie występowało u większości zwierząt (grupa IV) oraz 15 krów zdrowych. Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 1. Wynika z niej, że w grupie pierwszej u 48 krów stwierdzono drobnoustroje *Ureaplasma*, co stanowiło 72,7% zwierząt badanych. Odsetek ten w poszczególnych gospodarstwach wahał się od 62,5 do 80,0%. W grupie czwartej zwierząt, u których występowały mało zaznaczone zmiany zapalne błony śluzowej sromu i pochwy, infekcje tymi zarazkami były mniejsze i wynosiły 53,3%. Natomiast spośród zwierząt kontrolnych ureaplazmy wyosobniono tylko w 2 przypadkach, a więc w 13,3%. Można więc przypuszczać, że ureapla-

zy mogą mieć **znaczenie w powstawaniu GVV** u krów. Za udziałem tych drobnoustrojów w etiologii zapalenia pochwy i sromu u krów, a tym samym za ich właściwościami patogennymi, przemawiają badania Ruhnke i wsp. (16). Autorom tym udało się bowiem wyosobnić ureaplazmy od krów z ostrym stanem zapalnym błony śluzowej sromu i pochwy w 100 procentach, a od zwierząt z nieznacznym przekrwieniem tego narządu w 74 procentach. U krów klinicznie zdrowych ureaplazmy stwierdzili tylko w 23,5%. Chociaż w pracy własnej liczba zakażonych zwierząt w poszczególnych grupach

była niższa, to zarówno w jednym, jak i w drugim przypadku wykazano dość znaczną różnicę w odsetku krów zakażonych pomiędzy grupami zwierząt chorych i zdrowych. Za udziałem ureaplazm w etiologii GVV przemawiają również inne doniesienia (8, 19). Wykazano w nich, podobnie jak w pracy własnej, wysoki odsetek krów z objawami GVV zakażonych tym zarazkiem. U dane eksperymentalne zakażenia zwierząt i wywołanie u nich objawów charakterystycznych dla GVV lub innych objawów chorobowych ze strony narządu rozrodczego (6, 10, 17) świadczą również o właściwościach chorobotwórczych tego zarazka.

Z omawianej tabeli wynika również, że w trzech pierwszych grupach, a więc u zwierząt z objawami klinicznymi, charakterystycznymi dla GVV, na 48 dodatnich wyników aż w 32 przypadkach uzyskano wzrost ureaplazm w rozcieńczeniu 10⁻³ lub wyższym. Natomiast w grupie czwartej, na 16 wyników pozytywnych wzrost w tym rozcieńczeniu otrzymano tylko w 4 przypadkach, a w grupie kontrolnej (V) nie uzyskano wzrostu. Mimo, iż próba ta obarczona jest dużym błędem, może jednak świadczyć, że u zwierząt z wykształconymi objawami klinicznymi nastąpiło większe namnożenie ureaplazm.

W znacznie mniejszym odsetku izolowano drobnoustroje *Mycoplasma*. W trzech pierwszych grupach wyizolowano je tylko od 3,0% krów, a nie udało się wyosobnić tych zarazków od zwierząt grupy IV i kontrolnej. W niskim odsetku mykoplazmy od krów izolowali również Ball i wsp. (2, 3) oraz Witkowski i wsp. (20). Chociaż z omawianej tabeli, podobnie jak podają Ernø i Filipsen (7), nie wynika, iż mykoplazmy mają znaczenie w wywoływaniu obja-

Tab. 2. Wyniki izolacji drobnoustrojów *Mycoplasmatales* z pochwy krów oraz próbek nasienia buhajów użytych do inseminacji tych krów

Gospodarstwo	Rodzaj i liczba zwierząt	Rozcieńczenia w których stwierdzono wzrost drobnoustrojów				Dodatni wynik izolacji	
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	liczba	%
I	krowy* 40	U	28	23	16	19	72,5
		M	3	2	1	4	10,0
	buhaj 1	U	1	1	1	1	
		M	1	1	1	1	
II	krowy* 50	U	30	22	17	31	62,0
		M	6	6	3	6	12,0
	buhaj 1	U	1	1	1	1	
		M	—	—	—	—	
III	K 11**	U	1	—	—	1	14,4
		M	1	—	—	1	14,4

Objaśnienia: * = u krów występowały objawy *vulvovaginitis granularis*, ** — jałówki nie kryte ani nie unasieniane, U = rodz. *Ureaplasma*, M = rodz. *Mycoplasma*, — = brak wzrostu.

wów chorobowych, to jednak badania innych autorów (1, 4, 5, 18) wskazują na właściwości patogenne tych zarazków.

Reasumując wykazano, iż podobnie jak buhaje ze zmianami zapalnymi błony śluzowej prącia (13) również krowy z objawami klinicznymi GVV w wysokim odsetku zakażone są drobnoustrojami *Ureaplasma*. Natomiast infekcje mykoplazmami występują u niewielkiej liczby zwierząt.

Analogiczne wyniki uzyskano w kolejnym doświadczeniu. Przedstawiono je w tabeli 2.

Zarówno mykoplazmy, jak i ureaplazmy próbowano izolować z pochwy krów pochodzących z dwóch różnych gospodarstw. Krowy grupy pierwszej były kryte przez buhaja, z którego nasienia wyosobniono oba rodzaje tych drobnoustrojów, a krowy drugiej grupy nasieniem zawierającym tylko ureaplazmy. Ponieważ istniały trudności związane z doбором krów, co do których nie było pewności, iż nie były unasieniane nasieniem zawierającym drobnoustroje *Mycoplasmataceae*, grupę kontrolną stanowiły jałówki nie kryte ani, też unasieniane.

Jak wynika z tab. 2 od krów grupy pierwszej ureaplazmy wyosobniono w 72,5%, a od zwierząt grupy drugiej w 62,0%. Tylko u jednej jałówki, spośród 11 badanych zwierząt kontrolnych, a więc u 14,4% zwierząt tej grupy stwierdzono ureaplazmy. Otrzymane rezultaty są podobne do wyników uzyskanych w doświadczeniu poprzednim (tab. 1).

Biorąc pod uwagę różnicę w ilości zwierząt zakażonych w grupie pierwszej i drugiej a liczbą tych zwierząt w grupie kontrolnej, można przypuszczać, że infekcja drobnoustrojami *Ureaplasma* szerzy się w stadzie między innymi poprzez unasienianie krów nasieniem zakażonym lub przez kontakt płciowy. Podobny sposób szerzenia się infekcji obserwowali również Rae

(15), Thornber (19), Hare (9). Wydaje się jednak, iż zakażenie tymi zarazkami może przenosić się również drogą niepłciowego kontaktowania się zwierząt zdrowych z chorymi (14, 15). Przykładem tego jest wykazanie ureaplazm u jałówek nie inseminowanych i nie krytych (grupa III). Potwierdzono to również w innej pracy własnej (14).

Z analizowanej tab. 2 wynika, że odsetek zakażonych zwierząt mykoplazmami był stosunkowo niski i wynosił u krów grupy pierwszej 10,0, a u krów grupy drugiej 12,0. Nie wykazano więc różnicy między tymi grupami mimo, iż krowy grupy pierwszej były kryte buhajem, u którego w nasieniu znajdowały się mykoplazmy, a krowy grupy drugiej były unasieniane nasieniem wolnym od tych drobnoustrojów. Otrzymane wyniki są trudne do skomentowania. Uważa się bowiem, że drogi rodne krów wolnych od mykoplazm udaje się łatwo zasiedlać tymi zarazkami. Jednak z pracy Seade i Al-Aubaidi (18) wynika, że nie od wszystkich jałówek, którym podano nasienie wraz z mykoplazmami udało się izolować te zarazki, a w pracy własnej (14) nie udało się zakazić mykoplazmami jałówek, od której uprzednio izolowano ureaplazmy. W innym zaś przypadku od jałówki zakażonej szczepem *Mycoplasma* nie wyosobniono tego zarazka, gdy dodatkowo zakażono ją ureaplazmami, mimo że uprzednio regularnie izolowano mykoplazmy.

Chociaż przedstawione obserwacje nie upoważniają do wyciągnięcia jednoznacznych wniosków, to można przypuszczać, że zakażenie mykoplazmami narządu rozrodczego u krów jest trudniejsze, niż to ma miejsce w przypadku ureaplazm. Nie podważa to jednak wykazanych wcześniej przez innych autorów (1, 3, 4, 5, 18) właściwości chorobotwórczych tych drobnoustrojów.

Wnioski

1. Wykazanie u krów z objawami grudkowego zapalenia błony śluzowej sromu i pochwy dużego odsetka zwierząt zakażonych ureaplazmami, może świadczyć o udziale tych drobnoustrojów w wywoływaniu tego schorzenia.

2. Infekcje drobnoustrojami *Mycoplasma*, sądząc po zbyt niskim odsetku zwierząt zakażonych, nie wydają się mieć większego znaczenia w etiologii GVV.

Piśmiennictwo

1. Afschar A., Stuart P., Huck R. A.: Vet. Rec. 78, 512, 1966.
2. Ball H. J., McCaughey W. J.: Vet. Rec. 104, 482, 1979.
3. Ball H. J., Neill S. D., Ellis W. A., O'Brien J. J., Ferguson H. W.: Br. vet. J. 134, 584, 1978.
4. Bockisch H., Pfützner H., Templin G., Kreusel S.: Arch. exp. Vet. Med. 40, 48, 1986.
5. Boughton E., Hopper S. A., Gayford P. J. R.: Vet. Rec. 22, 87, 1983.
6. Doig P. A., Ruhnke H. L., Palmer N. C.: Can. J. comp. Med. 44, 252, 1980.
7. Erno H., Philipsen H.: Acta vet. scand. 10, 108, 1969.
8. Friis N. F., Krogh H. V.: Nord. Vet. Med. 35, 74, 1983.
9. Hare W. C. D.: 53 rd General Session OIE, Paris 1985.
10. Miller R. B., Ruhnke H. L., Doig P. A., Poitras B. J., Palmer N. C.: Theriogenology 20, 367, 1983.
11. Pilaszek J.: Udział szczepów *Ureaplasma* w etiologii zapalenia płuc u cieląt. Praca hab. Instytut Weterynarii, Puław 1982.
12. Pilaszek J.: Medycyna Wet. 41, 716, 1985.
13. Pilaszek J.: Medycyna Wet. — w druku.
14. Pilaszek J.: Sprawozdanie roczne, Instytut Weterynarii, Puławy 1986 (praca przygotowywana do druku).
15. Rae A. G.: Vet. Rec. 11, 462, 1982.
16. Ruhnke H. L., Doig D. K., Mackey A. L., Gragnon A., Kirstred H.: Can. J. comp. Med. 42, 151, 1978.
17. Ruhnke H. L., Palmer N. C., Müller R. B.: Theriogenology 21, 295, 1984.
18. Sead O. M., Al-Aubaidi J. M.: Cornell Vet. 73, 125, 1983.
19. Thoruber P. M.: Vet. Rec. 11, 591, 1982.
20. Witkowski G., Roth B., Kirchoff H.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 97, 189, 1984.

Adres autora: doc. dr hab. Józef Pilaszek, ul. Cichockiego 5/15, 24-100 Puławy

THOMAS A. D., FORBES-FOULKNER J. C., NORTON J. H., TRUEMAN K. F.: Objawy kliniczne i zmiany chorobowe u kóz zakażonych doświadczalnie *Pseudomonas pseudomallei*. (Clinical and pathological observations on goats experimentally infected with *Pseudomonas pseudomallei*). Aust. Vet. J. 65, 43—46, 1988 (2)

U kóz po zakażeniu podskórnym zawiesiną ponad 500 komórek *P. pseudomallei* rozwija się ostre, kończące się zejściem śmiertelnym zakażenie. Po zakażeniu niższymi dawkami zarazka (od 0 do 225 komórek) rozwija się ostre lub chroniczne zakażenie. U 11 z 18 kóz zakażonych małymi dawkami zarazka nie występowały żadne objawy kliniczne i nie wyizolowano zarazki. U chorych sztuk zarówno leczenie tetracykliną o przedłużonym działaniu, jak i chloramfenikolem nie dawało zadowalających rezultatów. U kóz, które przeżyły początkową fazę zakażenia, choroba ustępowała powoli. W przebiegu choroby występowała typowa gorączka, utrata łaknienia, kacheksja, porażenie tylnych kończyn, ostre zapalenia wymienia i ronienia. Na sekcji wykazywano obecność licznych ropni, głównie w śledzionie, płucach i pod skórą w miejscu wprowadzenia zarazki.

G.

MATTHEWS A. G., HACKETT I. J., LAWTON W. A. — Mukolityczne działanie sputolozyny u koni w schorzeniach układu oddechowego. (The mucolytic effect of Sputolysin in horses with respiratory diseases). Vet. Rec. 122, 106—108, 1988 (5)

Пидяшек Ю. — Появление микроорганизмов *Mycoplasma* в органе размножения скота. 11. Изоляция штаммов от коров

Определено степень инфекции органа размножения коров микроорганизмами, принадлежащими к родам *Mycoplasma* и *Ureaplasma*. Этих возбудителей пробовали изолировать из мазков, взятых из влагалища 186 коров, у которых отмечались клинические симптомы, определяемые как гранулярный вульвовагинит, а также от 15 коров и 11 телок без этих симптомов. Из проведенных исследований вытекает, что коровы с симптомами гран. вульвовагинита в высоком проценте инфицированы были микроорганизмами *Ureaplasma*. Этот процент колебался в зависимости от стада от 53,3 до 80% мивотных. От здоровых же животных возбудителей удалось изолировать только от 13,3% коров и 14,4% телок. Дополнительные исследования указывают на то, что на слизистый оболочке коров с симптомами гран. вульвовагинита было большее размножение уреоплазм чем у здоровых животных. Инфекция коров микоплазмами была значительно меньше и составляла 0—12,5% животных.

Pilaszek J. — Mycoplasmales sp. in the reproductive organ of cattle II. Isolation of the strains from cows

The degree of infection of the reproductive organ of cows by *Mycoplasma* and *Ureaplasma* sp. was assessed. The material was taken from the vagina of 186 cows with clinical signs of granular vulvovaginitis (GVV), and from 15 cows and 11 heifers with no signs of the disease. It was found that the cows with the signs of GVV were infected to a large extent by *Ureaplasma* sp. Per cent prevalence ranged from 53.3 to 80.0 depending on a herd under study. In healthy animals these bacteria were isolated only from 13.3 to 14.4% of cows. Additional examinations indicated that a higher number of *Ureaplasma* was recorded on the mucous membrane of cows with GVV than those of normal animals. The degree of infection of cows with *Mycoplasma* species was much lower and ranged from 0 to 12.5%.

Przebadano skuteczność kliniczną preparatu Sputolisin o działaniu mukolitycznym na 28 koniach ze schorzeniami układu oddechowego. Preparat poprzez zwiększenie aktywności wydzielniczej gruczołów srurowicznych układu oddechowego powoduje upłynnienie śluzu zalegającego drogi oddechowe. U koni otrzymujących preparat w dawce 0,3—0,5 mg/kg masy ciała dwa razy dziennie znacząco obniżały się epizody kaszlu, spadał czas upłynnienia wykrztusiny i wydzieliny z jamy nosowej. Lek jest bardzo przydatny w schorzeniach układu oddechowego którym towarzyszy nadmierne wydzielanie śluzu.

G.

RIJNBEEK A., VON WEES A., MOL J. A. — Ocena dwóch testów stosowanych w rozpoznawaniu nadczynności kory nadnerczy u psów. (Assessment of two tests for the diagnosis of canine hyperadrenocorticism). Vet. Rec. 122, 178—180, 1988 (8)

Test supresji z użyciem niskich dawek deksametazonu przeprowadzono u 166 psów zaś test oznaczania stosunku hormonów kory nadnercza do kreatyniny wykonano u 150 psów. Wśród 166 psów u których podejrzewano nadczynność kory nadnerczy, potwierdzono jej występowanie w 129 przypadkach w oparciu o test supresji z użyciem małych dawek deksametazonu. U 2 z 19 psów występowały nowotwory kory nadnerczy u 17 nadczynność kory nadnerczy była uzależniona od przysadki. Test określania stosunku hormonów kory nadnerczy do kreatyniny w moczu nadaje się w pełni do stosowania w rutynowych badaniach nadczynności kory nadnerczy, zwłaszcza w badaniach skriningowych.

G.