

## IMUNOPROFILAKSA BOVINIH MASTITISA\* *IMMUNOPROPHYLAXIS OF BOVINE MASTITIS*

V. Pavlović, Slobodanka Vakanjac\*\*

*Mastitis predstavlja veliki ekonomski i zdravstveni problem u zapatima mlečnih krava. Dugogodišnji različiti pristupi lečenja mastitisa nisu dali adekvatno rešenje, pa je problem mastitisa i dalje prisutan i aktuelan. Lečenje mastitisa antibioticima daje zadovoljavajuće rezultate, ali ono sa sobom nosi troškove u lečenju i odbacivanju mleka.*

*Iz svih navedenih razloga, mogućnost iznalaženja novih rešenja stalno prisutnog problema mastitisa se ogleda u novoj oblasti naučnog ispitivanja, a to je imunoprofilaksa. Dosadašnje vakcine protiv mastitisa su još uvek nedovoljno efikasne u široj praksi i na nivou su eksperimentalnih vakcina. Sve stajске vakcine na kojima se do sada radilo, pokazuju značajan eksperimentalni uspeh. Taj uspeh se ogleda u značajnom povećanju titra antitela u serumu (ali ne i u mleku), kao i u smanjenju pojave kliničkih i supkliničkih mastitisa među ogleđnim i kontrolnim životinjama. Ipak se i dalje smatra da je imunoprofilaksa kao jedan od metoda prevencije zapaljenja vimena i pojave mastitisa, još uvek nedovoljno istraženo polje naučnog rada.*

*Mnogi naučnici se bave problematikom pravljenja vakcina protiv mastitisa, ali složenost same mlečne žlezde, kao i specifična propustljivost barijere krv-mleko, smanjuje uspešnost ovih napora.*

*Ključne reči: mastitisi, vakcina, imunoprofilaksa krava*

### Uvod / Introduction

Mastitisi predstavljaju jedan od najaktuelnijih problema u intenzivnoj proizvodnji mleka, nanoseći velike ekonomske gubitke, koji čak i u ekonomski razvijenim zemljama iznose od 20 do 80 %. Dugogodišnji različiti pristupi lečenju mastitisa nisu dali odgovarajuće rešenje, pa je problem mastitisa i dalje prisutan i

\* Rad primljen za štampu 8. 8. 2003. godine. Rad nije lektorisan.

\*\* Dr Vojslav Pavlović, redovni profesor, mr Slobodanka Vakanjac, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Beograd

aktuelan. Sprečavanje prodora patogenih mikroorganizama u mlečnu žlezdu, njihovo naseljavanje i razmnožavanje nameću stalnu potrebu za redovnim kontrolama mleka kao i preduzimanje preventivnih i terapijskih mera u cilju smanjenja nastanka mastitisa. Smatra se da tri činioca imaju osnovnu ulogu u nastanku mastitisa, a to su nehigijensko držanje i ishrana, nepravilna eksploatacija, a posebno muža i infekcija kao neposredan uzrok pojave mastitisa.

Ispunjavanje osnovnih zoohigijenskih i zootehničkih uslova u stadima muznih krava podrazumeva svakodnevnu kontrolu vimena i prevenciju mastitisa, a koje se postiže svakodnevnom obaveznom pranjem vimena pre svake muže kao i pravilna ručna ili mašinska muža, uz sve ovo potrebno je i nezaobilazno je potapanje sisa u dezinficijens posle muže. Nepravilna ručna muža kao i mašinska muža aparatima sa poremećenim pulzatorom ili lošim vakuumom otvora mogućnost infekcije mlečne žlezde i nastanak mastitisa. Potapanje sisa u dezinficijens posle muže značajno smanjuje broj bakterija u sisnom kanalu i na taj način smanjuje mogućnost njihovog prodora u vime.

Kao preventivna mera podrazumeva se i terapija krava u zasušenju koja podrazumeva lokalnu aplikaciju antibiotika posle poslednje muže. Terapija krava u zasušenju treba u narednoj laktaciji da obezbedi što duži period neinficiranosti vimena, a obavezna je kod dijagnostikovanih supkliničkih mastitisa izazvanih mikroorganizmima kao što su *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus agalactiae*. Ovi preparati su obeleženi da se koriste u periodu zasušenja, a pokrivaju kompletnu antibiotsku paletu lekova.

Cilj antibiotske terapije je da uništi patogene mikroorganizme, a da ne izazove oštećenja na mlečnoj žlezdi. Eliminacija mikroorganizama iz vimena zavisi od koncentracije i vrste antibiotika kao i od načina primene i vremena aplikacije. Supkliničke mastitise izazvane *Str. agalactiae* i *Staph. aureus*-om neophodno je da se leče odmah po otkrivanju. Supklinički mastitisi izazvani *Str. agalactiae* izuzetno uspešno se leče preparatima na bazi penicilina, ili eritromicina. Terapija se primenjuje samo lokalno dva puta dnevno, u dobro izmuženu obolelu četvrt. Supklinički mastitis izazvan *Staph. aureus*-om takođe treba lečiti samo lokalno, preparatima na bazi amininoglikozida, tri dana, mada je uspešnost ove terapije veoma mala i iznosi negde oko 40%. Terapiju kliničkih mastitisa treba prvenstveno usmeriti prema simptomima bolesti. Antibiotska terapija se kod kliničkih mastitisa provodi parenteralno i lokalno uz istovremenu intravensku primenu glikoze, rastvora elektrolita i vitamina.

Lokalna i parenteralna terapija antibiotika kao i primena odgovarajućih zoohigijenskih i zootehničkih mera, pravilna muža i ishrana smanjuju pojavu mastitisa i daju adekvatne rezultate. Problem mastitisa je i dalje prisutan u intenzivnoj proizvodnji mleka pa je bilo nepohodno da se rešenja traže u modernijim pristupima, a to su imunoprofilaksa i imunoterapija koja je usmerena na pronalaženje efikasnih vakcina protiv mastitisa.

Radovi iz oblasti vakcinacije protiv mastitisa preživara ukazuju na ograničen uspeh u dobijanju značajnijih rezultata imunoprofilakse. Još pre 80 go-

dina je pokazano da supkutana injekcija živog *Str. aureus*-a kod ovaca izaziva znatnu otpornost na eksperimentalni stafilokokni mastitis. U bližoj prošlosti potvrđeno je da „žive” *Staph. aureus* vakcine daju znatnu zaštitu protiv eksperimentalnih mastitisa ovaca, dok sa inaktivisanim uzročnicima vakcine nisu efikasne. Imunoprofilaksa protiv mastitisa tokom sedamdesetih godina temeljena je na polivakcinama koje su u svom sastavu imale imunogene sojeve stafilokoka, streptokoka i koliformnih bakterija, egzotoksine i endotoksine. Polivalentne vakcine nisu se u praksi pokazale kao uspješne, pa je napušten taj sistem pravljenja vakcine i otpočela je proizvodnja monovakcina koje daju mnogo bolje rezultate.

#### **Imunoprofilaksa mastitisa prouzrokovanog *Staphylococcus aureus*-om / *Immunoprophylaxis of mastitis caused by *Staphylococcus aureus****

Veliki broj radova u svetskoj literaturi posvećen je pravljenju eksperimentalne vakcine protiv mastitisa prouzrokovanog *Staph. aureus*-om. *Staphylococcus aureus* je mikroorganizam koji izaziva teške akutne mastitise veoma često sa promenom opšteg stanja kao i supkliničke forme mastitisa. Terapija ovih mastitisa ne daje uvek zadovoljavajuće rezultate i to je još jedan razlog zbog kojeg se rešenje problema ovog mastitisa traži u kvalitetnoj vakcini. Vakcina protiv mastitisa izazvanog *Staph. aureus* sadrži inaktivisane ćelije *Staph. aureus*. Veliki broj radova ukazuje da se pored inaktivisane ćelije *Staph. aureus* vakcini mogu dodati, u cilju povećanja efikasnosti i alfa i beta toksoidi, kao i delovi kapsule. Predhodno nabrojane vakcine imale su kao adjuvans aluminijum hidroksid ili mineralno ulje. Noviji pristup pravljenju vakcine daje Watson [33] tako što je upotrebio inaktivisani ćelijski toksoid *Staph. aureus*, a kao adjuvans koristio je dekstran sulfat. Isti autor navodi da dekstran sulfat dovodi do povećanja nivoa IgG<sub>2</sub> i da u kombinaciji sa mineralnim uljem daje obećavajuće rezultate. Noviji literaturni podaci ukazuju da vakcina koja je sastavljena od alfa toksoida, kapsularnog polisaharida (CPS) i fibronectin-binding proteina (FnBP) značajno podiže nivo imunoglobulina i ukazuje na mogućnost stvaranja subjediničnih vakcina u budućnosti. Ova vakcina je za sada ispitana samo na pacovima, ali ukazuje na nove mogućnosti pravljenja subjediničnih vakcina. Jedan sasvim nov pristup imunizaciji mlečne žlezde dao je O'Brien [17] koji je lisat *Staph. aureus* inkorporisao u biodegradibilne mikrosfere koje imaju funkciju stimulacije produkcije i opsonizacije antitela.

Vakcina može da se aplikuje intramamarno, parenteralno (supkutano) u regiju vrata i direktno u supramamarni limfni čvor. Aplikacija vakcine direktno u mlečnu žlezdu je uglavnom napuštena, zbog velikog otoka i reakcije same mlečne žlezde na vakcinu. Autori su za sada podeljeni u mišljenju oko efikasnosti davanja vakcine u sam supramamarni limfni čvor ili supkutano u regiju vrata. Aplikacija vakcine u limfni čvor daje nešto viši titar antitela u mleku, nego aplikacija vakcine parenteralno u regiju vrata. Ali takav način aplikacije vakcine dovodi do jakog lokalnog zapaljenja limfnog čvora, koji je otekao i veoma bolan. Zbog toga se sve više naučnika opredeljuje za noviji pristup davanja vakcine paren-

teralno-supkutano u regiju vrata, jer takav način aplikacije je jednostavan za rukovanje, a izbegnute su i lokalne reakcije tkiva na vakcinu.

Literaturni podaci ukazuju da je period pred teljenje najpogodniji termin za aplikaciju vakcine. Mada se u literaturi nalaze podaci da je vakcina davana kravama posle teljenja kao i neposredno pred samo teljenje, ali visina titra antitela u krvi i mleku nije zadovoljavajuća pa se sve češće radi vakcinisanje u periodu zasušenja. Podaci u literaturi o vremenu davanja revakcine su jako različiti, tako da neki autori pišu da je vreme za revakcinaciju najbolje u periodu mesec dana od vakcinisanja, a neki autori predlažu da to bude i pet meseci kasnije od davanja vakcine.

Došadašnji rezultati vakcinacije protiv *Staph. aureus*-a dovode do smanjenja broja kliničkih i supkliničkih mastitisa kod vakcinisanih grla od 20% do 40%, kao i do povećanja nivoa IgG u serumu vakcinisanih jedinki. Dobijaju se oprečni rezultati o broju SCC u mleku. U nekim radovima opisuje se značajno povećanje broja SCC, za razliku od drugih radova gde statistički nema značajnijeg povećanja broja SCC vakcinisanih grupa krava u odnosu na kontrolne grupe.

**Imunoprofilaksa mastitisa prouzrokovanog mikroorganizmima iz roda *Streptococcus* / Immunoprophylaxis of mastitis caused by microorganisms of the genus *Streptococcus***

*Streptococcus agalactiae* je najčešći izazivač mastitisa iz ovog roda mikroorganizama. Izaziva često akutne kataralne mastitise koji dovode do prestanka lučenja mleka, odnosno presušenja vimena. *Streptococcus agalactiae* dominira kao izazivač supkliničkih mastitisa na većini farmi mlečnih krava. Terapija antibioticima je zadovoljavajuća ali ipak infekcija sa streptokokama se održava u visokom procentu na farmama krava, što je jedan od razloga da se napravi eksperimentalna vakcina koja će smanjiti infekcije izazvane ovim mikroorganizmom. Veliki broj radova ukazuje da vakcina koja je napravljena od inaktivisane bakterijske ćelije smanjuje pojave kliničkih i supkliničkih mastitisa. Preliminarni eksperimentalni uspeh postigla je vakcina protiv *Streptococcus uberis* bazirana na plazminogen aktivatoru, PauA (total antigen) i Protein G agarozu (depleted antigen), što je znatno različit pristup izradi vakcina u odnosu na druge do sada eksperimentalne ili komercijalne vakcine protiv mastitisa. Način aplikacije i period u kojem se daje vakcina je sličan kao kod vakcine napravljene sa stafilokokama.

**Imunoprofilaksa mastitisa prouzrokovanog sa koliformnim i drugim mikroorganizmima / Immunoprophylaxis of mastitis caused by coliform and other microorganisms**

*Escherichia coli* izaziva akutne mastitise, često sa promenom opšteg stanja, toksemijom, parezom zadnjih ekstremiteta i visokom temperaturom. Ovaj mastitis zaheva kompleksnu parenteralnu terapiju antibioticima, velikim količi-

nama infuzije i potpornom vitaminskom terapijom. *E. coli* je veoma dobar imunogen za razliku od predhodnih mikroorganizama što olakšava i pojednostavljuje pravljenje efikasne vakcine. Veoma dobre rezultate postigla je vakcina protiv koliformnih mikroorganizama, tj. *E. coli*, vakcina po imenu J5, koja je napravljena od takozvanog Core-antigena ili J5 bakterina. U ovom trenutku je to jedina visoko efikasna vakcina, koja daje zaštitu ne samo protiv različitih sojeva *E. coli*, već i protiv drugih koliformnih bakterija. Krave se vakcinišu sa J5 vakcinom po preporuci ISU Dairy-Ames u toku servis perioda i revakcinišu 6 do 8 nedelja pred porođaj.

Vakcina napravljena od živih mikroorganizama *Mycoplasma bovis* pokazala je dobre rezultate, povećavajući nivo specifičnih antitela u serumu (IgG, IgM) kao i smanjujući broj kliničkih i supkliničkih formi mastitisa izazvanih *Mycoplasma*.

Premda sve ove vakcine pokazuju značajan eksperimentalan uspeh, koji se ogleda u povećanju titra antitela u serumu, ali ne i u mleku, kao i u smanjenju pojave kliničkih i supkliničkih mastitisa među ogleđnim kravama ili u tretiranim zapaćima, smatra se da je imunoprofilaksa u lećenju zapaljenja vimena još uvek nedovoljno istraženo polje naučnog rada. Mnogi naučnici se bave problematikom pravljenja vakcine protiv mastitisa, ali složenost same mlečne žlezde, kao i specifična propustljivost barijere krv-mleko smanjuje uspešnost ovih napora. Dobre rezultate pokazale su autohtone vakcine, napravljene ciljano za određenu farmu na osnovu poznavanja i procene „kretanja” zdravstvenog stanja vimena.

#### Literatura / References

1. Anderson J. C.: Problems of immunization against staphylococcal mastitis. Br. Vet. J. 134, 412, 1976. - 2. Boothby J.T. et al.: Experimental intramammary inoculation with *M. Bovis* in vaccinated and unvaccinated cow, effect on local and systemic antibody response. Can. J. Vet. Res 51, 1, 121, 1987. - 3. Bridre J.: La mammite gangrenese des brebis laiteires, pathogenie et vaccination. Bull. Soc. Cent. Med. Vet. 61, 500, 1987. - 4. Cullor J. S.: The *E. coli* J 5 vaccine, investigating a new tool to combat coliform mastitis. Vet. Med, 86, 836, 1991. - 5. Edinger D. B. et al.: Efficacy of a herd specific vaccine against staphylococcus aureus in dairy heifers. International Dairy Federation, Stressa, 410, 2000. - 6. Gaudio J. et al.: Field Trial of a Vaccine Against bovine Mastitis. 1. Evaluation in Heifers. J. Dairy: Sci. 80, 845, 1997. - 7. Hogan J. S. et al.: Effects on an *E. coli* J5 vaccine on mild clinical coliform mastitis. J. Dairy Sci. 78, 2, 285, 1995. - 8. Hoedermaker M., Kroff B.: Untersuchungen zum Einsatz einer stilspezifischen Vakzine gegen staphylococcus aureus in einen Milchviehbetrieb. Der. Praktische Tierarzt. Collegium veterinarium XXIX, 68, 1999. - 9. Ilić M., Miljković V., Olujić Miroslava, Pavlović V., Mrvoš G.: Problemi kliničko-bakteriološke dijagnostike i terapije mastita krava. Zbornik predavanja XII seminara za stručno usavršavanje veterinara, Beograd, 1983. - 10. Ilić M., Miljković V., Olujić Miroslava, Pavlović V.: Lećenje supkliničkih mastitisa u zasušenju. Zbornik XIV seminara za inovaciju znanja veterinara, 173. Beograd, februar 1985. - 11. Ilić M., Miljković V., Olujić Miroslava, Pavlović V.: Aktuelni problemi suzbijanja mastitisa krava. Zbornik radova Naučnog skupa povodom 50 godina postojanja Veterinarskog fakulteta, 130-133. Beograd, novembar, 1986. - 12. Leigh J. A. et al.: Vaccination with the plasminogen activator from *S. uberis* induces an inhibitory response and protect against experimental infection the dairy cow. Vaccine 26, 17, 7-8, 1999. - 13. Nicerson S. C. et al.: Effect of a Staphylococcus aureus bacterin on serum an-

tibody, new infection and mammary histology in nonlacting dairy cow. J. Dairy Sci. 76, 1290, 1993. - 14. Nordhang M. L. *et al.*: A field trial with experimental vaccine against staphylococcus aureus mastitis in cattle. 1. Clinical parameters. J. Dairy Sci. 77, 1267, 1994. - 15. Nordhang M. L. *et al.*: A field trial with experimental vaccine against staphylococcus aureus mastitis in cattle. 2. Antibody response. J. Dairy Sci. 77, 1276, 1994. - 16. Mellenberger R. W.: Vaccination Against Mastitis. J. Dairy Sci. 60, 6, 1016, 1977. - 17. O'Brien C. N. *et al.*: Immunization with *Staphylococcus aureus* lysate incorporated into microspheres. J. Dairy Sci. 84, 8, 1791, 2001. - 18. Park H. M. *et al.*: Immunogenicity of alpha-toxin, capsular polysaccharide (CPS) recombinant fibronectin-binding protein (r-FnBP) of *Staphylococcus aureus* in rabbit. J. Vet. Med. Sci. 61, 9, 995, 1999. - 19. Pavlović V.: Relationship of somatic cell and bacteria counts in milk samples obtained at different times between two successive milkings of cows XXII World Veterinary in Perth, Australia, Topic 8, 1983. - 20. Pavlović V., Miljković V.: Uloga polimorfonuklearnih (PMN) leukocita u odbrani mlečne žlezde krava od infekcije. Zbornik predavanja XII seminara za stručno usavršavanje veterinaru, Beograd, 1983. - 21. Pavlović V.: „Ispitivanje fagocitozne sposobnosti PMN leukocita u mleku krava tokom estralnog ciklusa”. Veterinarski fakultet, Beograd, 1987. - 22. Pavlović V.: Terapija mastitisa krava. Lepenski Vir, 1991. - 23. Pavlović V.: Primena antibiotičke terapije u zasušenom periodu krava. Niška Banja, 1992. - 24. Pavlović V., Vakanjac Slobodanka, Pavlović M.: Terapija mastitisa krava. Simpozijum „Mastitis i kvalitet mleka”, Niška Banja, 1994. - 25. Pavlović V., Slobodanka Vakanjac, Pavlović M.: Terapija vimena krava u zasušenju. Vet. glasnik 50, 5-6, Beograd, 1996. - 26. Pavlović V., Pavlović M., Slobodanka Vakanjac: Preventiva i terapija mastitisa krava. Zbornik radova. Simpozijum „Mastitis i kvalitet mleka”, Vrnjačka Banja, 2001. - 27. Vakanjac Slobodanka, Pavlović M., Pavlović V., Pavlović N.: Imunoprofilaksa mastitisa krava – dosadašnja saznanja. Zbornik radova. Simpozijum „Mastitis i kvalitet mleka”, Vrnjačka Banja, 30. maj - 2. jun 2001. - 28. Singelton L. *et al.*: Problems of immunization against staphylococcal mastitis. Br. Vet. J. 134, 412. - 29. Teofanović M. i sar.: Imunoprofilaksa mastitisa. Zbornik referata II Jugoslovenskog simpozijuma o suzbijanju mastitisa krava radi proizvodnje i poboljšanja kvaliteta mleka. 199, 1979. - 30. Vakanjac Slobodanka, Pavlović V.: Ispitivanje leka „Masterpena” u lečenju kliničkih i subkliničkih mastitisa. Veterinarski glasnik 1-2, 51, 55-60, 1997. - 31. Vakanjac Slobodanka, Pavlović M, Pavlović V, Pavlović N.: Imunoprofilaksa mastitisa krava- dosadašnja saznanja. Simpozijum. Mastitis i kvalitet mleka. Vrnjačka Banja, 2001. - 32. Watson D. L.: Vaccination against experimental staphylococcal mastitis in dairy heifers. Res. Vet. Sci 53, 3, 346, 1992. - 33. Watson D. L. and Lee G. C.: Immunity to experimental staphylococcal mastitis-comparison of live and killed vaccines. Aust. Vet. J. 54, 374, 1978. - 34. Yancey R. J. Recent: Advances in Bovine Vaccine Technology. J. Dairy Sci. 76, 2418, 1993. - 35. Yancey R. J.: Vaccines and diagnostic method for bovine mastitis fact and fiction. Adv. Vet. Med. 41, 257, 1993.

ENGLISH

IMMUNOPROPHYLAXIS OF BOVINE MASTITIS

V. Pavlović, Slobodanka Vakanjac

Mastitis poses a major economic and health problem in herds of dairy cows. The many years of taking different approaches to treating mastitis have not resulted in an adequate solution, so that the problem of mastitis is still present and acute. The treatment

of mastitis using antibiotics yields satisfactory results, but it implies substantial costs for treatment and losses in rejecting milk.

Due to the above reasons, a new area of scientific research offers possibilities for finding new solutions to the ever present problem of mastitis - immunoprophylaxis. Vaccines against mastitis available at this time are still not sufficiently effective in general practice, and they are at the level of experimental vaccines. All barn vaccines which have been worked on so far have been significantly experimentally successful. The success is in a significant increase in the antibody titer in serum (but not in milk), as well as in reducing the incidence of clinical and subclinical mastitis cases among experimental and control animals. Nevertheless, it is still believed that immunoprophylaxis, as a method for preventing inflammation of the udder and the occurrence of mastitis, is still an insufficiently investigated field of scientific research.

Many scientists are engaged on the problem of finding a vaccine against mastitis, but the complexity of the mammary gland and the specific permeability of the blood-milk barrier do not permit these efforts to be as successful as they might be if this were not the case.

Key words: mastitis, vaccine, immunoprophylaxis, cows

**РУССКИЙ**

## **ИММУНОПРОФИЛАКТИКА БОВИНИХ МАСТИТОВ**

**В. Павлович, Сlobоданка Ваканяц**

Мастит представляет собой большую экономическую и здравоохранительную проблему в племенных приплодах молочных коров. Многолетние различные подступы лечения мастита не дали адекватное решение, да проблема мастита и дальше присутствующая и актуальная. Лечение мастита антибиотиками даёт удовлетворительные результаты, но оно с собой носит расходы в лечении и отбрасывании молока.

Из всех выше приведённых причин возможность нахождения новых решений постоянно присутствующей проблемы мастита осматривается в новой области научного испытания, а это иммунопрофилактика. Бывшие до сих пор вакцины против мастита всё ещё недостаточно эффективные в более широкой практике и на уровне экспериментальных вакцин. Все хлевные вакцины на которых до сих пор работалось, показывают значительный экспериментальный успех. Этот успех осматривается в более значительное увеличение титра антител в сыворотке (но не и в молоке), словно и в уменьшении явления клинических и подклинических маститов между опытными и контрольными животными. Всё таки и дальше считается, что иммунопрофилактика как один из методов превенции воспаления вымени и явления мастита всё ещё недостаточно исследованная область научной работы.

Многие учёные занимаются проблематикой делания вакцин против мастита, но сложность самой молочной железы словно и специфичность пропускаемость барьера кровь - молоко, уменьшает успешность этих усилий.

Ключевые слова: маститисы, вакцина, иммунопрофилактика коров