

MIKOPLAZME KAO UZROČNICI INFEKCIJE KOD GOVEDA

Branka Vidić¹, Stanko Boboš, Sara Savić, Živoslav Grgić

Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad", Novi Sad

Kratak sadržaj

Poslednjih godina više od 20 vrsta mikoplazmi iz roda *Mycoplasma*, *Ureaplasma* i *Acholeplasma* izolovano je kod goveda sa različitom kliničkom slikom bolesti. Većina vrsta ima sekundarnu ulogu u nastajanju infekciji, za razliku od *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) koja ima primarnu ulogu u infekciji kod goveda. Dokazano je da je *M. bovis* veoma čest uzročnik pneumonije, mastitisa i artritisa kod krava. Osim toga, *M. bovis* je dokazan kao uzročnik meningitisa, zapaljenja srednjeg uha, keratokonjuktivitisa, dekubitalnih apscesa, vaginitisa i pobačaja kod krava. Dijagnoza se postavlja na osnovu kliničke slike i dokazivanja uzročnika, bilo da se radi o pojedinačnim grlima ili na nivou zapata. Koriste se metode kultivacije uzročnika, fluorescentni test za dokazivanje antigena iz patološkog materijala, kao i nalaz specifičnih antitela primenom više različitih seroloških metoda: brza aglutinacija na pločici, indirektna heminhibicija, agar-gel imunodifuzija, RVK, ELISA i dr. Lančana reakcija polimeraza (PCR) je veoma osetljiv metod koji se sve više koristi za potvrdnu etiološku dijagnostiku. Za razliku od većine bakterijskih infekcija terapija kod infekcija izazvanih mikoplazmama je veoma zahtevna uz postojanje rezistencije prema najčešće korišćenim antibioticima. *M. bovis* je jedan od najtežih od ovih agenasa za kontrolu jer slabo reaguje na lečenje. Dobar program suzbijanja oboljenja izazvanih mikoplazmama podrazumeva blagovremeno otkrivanje kliconoša i njihovo uklanjanje iz stada.

Ključne reči: mikoplazme, goveda, dijagnoza, kontrola

¹ E- mail: branka@niv.ns.ac.rs

MYCOPLASMA AS THE CAUSE OF INFECTIONS IN CATTLE

Branka Vidić, Stanko Boboš, Sara Savić, Živoslav Grgić

Scientific Veterinary Institute "Novi Sad", Novi Sad

Abstract

During the last few years more than 20 different types of *Mycoplasma*, *Ureaplasma* and *Acholeplasma* microorganisms have been isolated from cattle with different clinical signs. Most of *Mycoplasma* microorganisms have a secondary role in the appearance of infection in cattle. Differently, *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) has a primary role in the infection of cattle. It has been proved that *M. bovis* frequently causes pneumonia, mastitis and arthritis in cows. Besides, *M. bovis* is identified as a causative agent in meningitis, middle ear infection, keratoconjunctivitis, decubitus abscesses, vaginitis and miscarriages in cows. Diagnostic was done based on the clinical signs and detection of the causative agent, in individual animals and in the herds as whole. The methods used for diagnostic can be cultivation of the causative agent or fluorescence test for antigen detection in pathological material. Also, the detection of specific antibodies can be done, applying different serological methods: fast agglutination on a plate, indirect hemi-inhibition, agar gel immunodiffusion, CF, ELISA, etc. Polymerase chain reaction (PCR) is a sensitive method which is mostly used for confirmatory etiological diagnostic. The treatment of *Mycoplasma* infection is very demanding due to the resistance to most frequently used antibiotics and therefore very different from treating any other bacterial infection. *M. bovis* is one of the most complicated agents for control as its response to the treatment is weak. A good program for eradication of mycoplasmosis is based on early carrier detection and they are excluded the herds.

Key words: mycoplasma, cattle, diagnosis, control

UVOD

Sve mikoplazme svrstane su u klasu *Mollicutes* (*mollis* - mekan, *cutis* - koža), a vrste su podeljene u četiri reda: *Mycoplasmates*, *Entoplasmates*, *Acholeplasmates* i *Anaeroplasmates*. Do danas je izolovano više oko 160 vrsta mikoplazmi. Većina vrsta patogenih za domaće i divlje ptice i sisare spadaju u familiju *Mycoplasmataceae*, rodove *Mycoplasma* i *Ureaplasma*. Mikoplazme su najmanji prokariotski mikroorganizmi, koji se mogu samostalno razmnožavati na veštačkim hranljivim podlogama. Mikoplazme u svom sastavu imaju i

RNK i DNK. Iako su po pojedinim osobinama slične virusima (veličina, filtrabilne su i imaju sposobnost hemaglutinacije), po nekim gljivicama (stvaraju filament), kao mikoorganizmi sa sopstvenim metabolizmom koji se i samostalno razmnožavaju, mikoplazme se ubrajaju u bakterije. Građene su od jedarne strukture, citoplazme, ribozoma, ponekad i plazmida, a spolja se nalazi citoplazmina ovojnica. Zbog nedostatka ćelijskog zida, mikoplazme su osjetljive na osmotski pritisak, alkohol, delovanje antitela i komplementa, a otporne na penicilin i druge antibiotike koji deluju na ćelijski zid. Slabo se boje po Gramu, a bolje po Giemsi. Izolacija mikoplazmi iz kliničkih materijala je složena i zahtevna. Teško se uzgajaju na hranljivim podlogama, i za rast zahtevaju obogaćene i selektivne podloge koje sadrže specifične faktore rasta. Podloge se inkubiraju na 37°C sa ili bez CO₂, uz visoku vlažnostu, tokom 10 dana. Tako na PPLO agaru nakon 3-7 dana izrastu male kolonije promera oko 1 mm, sa karakterističnim izgledom jajeta na oko. Lančana reakcija polimeraza (PCR) je veoma osjetljiv metod koji se sve više koristi za potvrdnu etiološku dijagnostiku (Pflitsch, 1994; Razin, 1994). U identifikaciji vrsta mogu se koristiti više metoda: direktna i indirektna fluorescencija, RVK, ELISA, PCR.

Poslednjih godina više od 20 vrsta mikoplazmi iz rodova *Mycoplasma*, *Ureaplasma* i *Acholeplasma* je izolovano kod goveda sa različitom kliničkom slikom bolesti (Henderson i Ball, 1999). Većina vrsta mikoplazma imaju sekundarnu ulogu u nastajanju infekcija kod goveda, za razliku od *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) koja ima primarnu ulogu u infekciji kod goveda. Dokazano je da je *M. bovis* veoma čest uzročnik pneumonije, mastitisa i artritisa u krava (Gonzales i sar., 1993; Smith, 1996). Osim toga, *M. bovis* je dokazan kao uzročnik meningitisa, zapaljenja srednjeg uha, keratokonjuktivitisa, dekubitalnih apscesa, vaginitisa i pobačaja kod krava (Rebhun, 1995). Pitanje primene terapije kod obolelih treba posmatrati sa nekoliko aspekata i naučnih saznanja koja danas postoje. Terapija u nekim slučajevima može biti efikasna u smislu smanjenja težine kliničkih simptoma, koji se ponovo pogoršavaju nakon prestanka terapije, ali kod životinje sa uznapredovalom kliničkom slikom ne očekuju se značajna poboljšanja. Teška klinička slika, i hronični artritis su stanja kod kojih se preporučuje uklanjanje životinja.

Epidemiologija

M. bovis je dobro prilagođena i naseljava sluzokože respiratornog, urogenitalnog trakta, mlečne žlezde, gde može da opstaje bez pojave kliničke slike bolesti. Sluzokoža gornjih respiratornih puteva je primarno mesto za kolonizaciju *M. bovis* kod goveda. Bez obzira na način zaražavanja, *M. bovis* se može tokom rane infekcije izolovati iz mnogih delova tela, naročito iz gornjih partija respiratornog trakta, mlečne žlezde, konjunktiva i urogenitalnog trakta.

Sluzokoža respiratornog trakta i mlečna žlezda predstavljaju najvažnija mesta održavanja i izlučivanja *M. bovis*. Iako većina goveda izlučuje *M. bovis* tokom nekoliko meseci, neka goveda mogu da izlučuju *M. bovis* povremeno tokom više godina. Faktori odgovorni za povremeno izlučivanje nisu još otkriveni. Goveda sa kliničkim simptomima bolesti, obično izlučuju jako veliki broj *M. bovis*. Stresni događaji, kao što su transport, ulazak u tovilište, hladnoća, povezani su sa povećanjem izlučivanja *M. bovis* iz nosa. Hronično inficirane jedinke bez kliničkih simptoma, koje povremeno izlučuju *M. bovis*, su značajne u epidemiologiji infekcije, posebno za održavanje *M. bovis* u stadu i predstavljaju rizik kod unosa u čiste zapate krava (Boboš i Vidić, 2005).

M. bovis se luči, pre svega, preko mleka, respiratornog i genitalnog trakta. Može se prenositi i preko sperme bika. Telad i junad izlučuju *M. bovis* preko organa za disanje tokom dugog vremenskog perioda i predstavljaju rezervoar uzročnika. Horizontalno prenošenje infektivnog agensa preko respiratornog trakta kod ovih životinja ima veliki značaj. *M. bovis* se može preneti sa inficirane krave intrauterino na fetus ili post partum na novorođeno tele. Uzročnik se naseljava u disajnom aparatu teladi i ostaje tamo, živ i infektivan, do polne zrelosti životinje, čak i do prvog teljenja. Kako tada dolazi do infekcije vime-na, nije još u potpunosti jasno (Boboš i Vidić, 2005). Neki autori posmatraju respiratorni i genitalni trakt kao mesto generalizacije infekcije, koja se zatim kod krava manifestuje kao mastitis, a kod teladi kao artritis. Promet inficiranim, klinički zdravim mladim životinjama je, pre svega, odgovoran za širenje infekcije *M. bovis* na druge zapate.

Pneumonija

Mikoplazme su uzročnici dva tipa pneumonije kod goveda: kontagiozne pleuropneumonije kod goveda i enzootske pneumonije kod teladi. Kontagiozna pleuropneumonija je teško infektivno oboljenje koje prouzrokuje *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. Enzootsku pneumoniju izazivaju bakterije vrste *Mycoplasma spp.* kada mogu biti primarni uzročnik ili zajedno sa drugim virusima i bakterijama. Vrlo često infekciju prate parainfluenza 3 virus (PI₃), goveđi herpes virus (IBR) i goveđi respiratorni sincicijalni virus (BRSV), a od bakterija *Histophilus somni* (*H. somni*), *Pasteurella multocida*, (*P. multocida*), *Mannhemia haemolytica* (*M. haemolytica*). Najčešće infekciju primarno započinju virusi. Iz promenjenih delova pluća sa pneumoničnim promenama može biti izolovano nekoliko vrsta mikoplazmi, ali samo neke od njih imaju patogeno dejstvo, a to su *M. dispar*, *M. bovis*, *M. bovirhinus*, *M. bovigentialium*, *Ureaplasma diversum*. Sa izuzetkom *M. bovis*, ostale mikoplazme mogu se naći i kao normalna flora u gornjim respiratornim partijama. Promene na

plućima nastaju kao posledica kolonizacije parenhima pluća mikoplazmama i oštećenjem mukocilijarnog epitela, kao i slabljenjem imuniteta (Ellis, 2001). Rezervoari infekcije su obolele životinje, a infekcija se u zapat unosi preko životinja kliconoša. Takve životinje izlučuju mikoplazme nosnim sekretom više meseci i godina, a da ne pokazuju kliničke simptome bolesti. Klinički simptomi kod goveda su najčešće kašalj, provociran stresom ili naporom, ubrzano disanje, povišena temperatura, bezvoljnost. Na obdukciji se uočavaju patološke promene na kranioventralnim delovima pluća, čiji izgled zavisi od starosti procesa. Najčešće su te promena u vidu crveno-plavih mramornih područja, nekad hepatizovana, a na preseku se uočava gnojni sadržaj. Histološki, uočavaju se znaci hronične bronhoalveolarne pneumonije, koja se karakteriše peribronhijalnom i perivaskularnom limfocitarnom infiltracijom, gnojni bronhiolitis, sa nakupinama neutrofila i makrofaga u lumen alveola, epithelizacija alveolarnih pegrada i atelektazije.

Definitivna dijagnoza se postavlja izolacijom uzročnika nakon uzimanja bronhoalveolarnog lavaža, uzimanjem tečnosti ili delova tkiva pluća. Primenom fluorescentnog testa dokazuje se antigen iz ispitujućih uzoraka. U terapiji se preporučuje aplikacija oksitetraciklina, eritromicina, tilozina, enrofloksacina i fluorfenikola. Enzotska pneumonija je multifaktorijalno oboljenje, tako da težinu i ispoljavanje intenziteta kliničke slike utiču i neki drugi faktori: uslovi držanja, ishrana, stres i slično (Boboš i Vidić, 2005). U tovilštu gde imamo saznanja da je prisutna infekcija *M. bovis*, antibiotici se mogu koristiti profilaktički, kako bi se sprečilo nastajanje ozbiljnih kliničkih simptoma. Antibiotici su skupi i njihova upotreba treba da bude racionalna i realno procenjena u svakoj situaciji, ali njihova primena u početnoj fazi infekcije je od ključnog značaja za efikasnost. Takođe je važno da se koristiti propisana doza leka, jer neadekvatno lečenje može da dovede do recidiva oboljenja (Nicholas i Ayling, 2003).

Na tržištu postoji nekoliko vakcina i one mogu biti veoma efikasne, ali to zavisi od infektivnog statusa i patologije u zapatu (Nicholas i sar., 2000). Vakcinacija je neophodna kod remonta stada, pre svega u zapatima sa visokom seroprevalencom, potrebno je novonabavljena grla vakcinisati. Vakcinacijom zaraženih ili obolelih životinja smanjuje se intenzitet kliničke slike, težina oboljenja, ali se infekcija ne može suzbiti. S obzirom da u jednom zapatu postoje značajne individualne razlike u osetljivosti na infekciju i stanje imuniteta, neophodno je primenjivati kombinaciju više metoda, kao što je kontrola uslova uzgoja, odnosno menadžmenta na farmi - vakcinacija, lečenje, da bi kontrola ove infekcije dala određene rezultate (Nicholas i Ayling, 2003).

Mastitis: Više vrsta *Mycoplasma spp.* mogu biti uzročnici mastitisa kod krava, ali je *M. bovis* najzastupljenija u mnogim zemljama (Filioussis i sar., 2003). Bolest se širi brzo u zapatu, tako da više krava u kratkom vremenu

pokazuju znake mastitisa, na jednoj ili više četvrti vimena. Kod krava u laktaciji uglavnom su zahvaćene sve četvrti vimena. Na takvim farmama javljaju se i problemi kod životinja na zglobovima, reproduktivne smetnje, pneumonija kod teladi i respiratorne smetnje kod odraslih grla. Krave sa akutnim mikoplazmatskim mastitisom imaju drastičan pad mlečnosti. Zahvaćene četvrti vimena su tople, otečene i svetlobraon boje. Na dodir parenhim mlečne žlezde je čvrste konzistencije i često sa čvorovima. Mleko iz zahvaćenih četvrti vimena ima normalan izgled, ali se jako brzo izdvaja grudvičast talog i bistar supernatant (Filioussis i sar., 2007). Pored akutnog mastitisa u zapatu se registruju i hronični mastitisi, intermitentne akutne epizode ili subkliničke infekcije kod jedinki. Kod krava sa subkliničkom infekcijom, proizvodnja mleka može da se vrati u normalno stanje, ali one i dalje izlučuju mikoplazme u mleku. Mikoplazme mogu da se prenose mehanički preko ruku, mašina za mužu i rastvora za pranje vimena (Fox i sar., 2005). Mikroskopski, akutnu infekciju karakteriše infiltracija neutrofila u intesticijum lobula, degeneracija i nekroza alveolarnog epitela i nakupljanje neutrofila u alveolima, što je praćeno pojavom abscesa (Byrne i sar., 2005). Kod subakutnih stadijuma, makrofagi dominiraju kao ćelije zapaljenske reakcije. Kod hroničnih mikoplazmatskih mastitisa karakteristična je hiperplazija alveolarnog epitela, nakupljanje limfocita u intersticijumu, intersticijalna fibroza i lobularna atrofija.

Za postavljanje dijagnozu vrši se kulturelno ispitivanje mleka. Kao i kod drugih infekcija izazvanih mikoplazmama, mikoplazmatski mastitis se teški leći. Zbog toga se uvek preporučuje preventiva u smislu pranja sisa, terpija zasušanih i krava u laktaciji, održavanje mašina za mužu i drugo. Kada se jednom ustanovi mikoplazmatski mastitis u stadu, neophodna je identifikacija inficiranih grla i njihovo strogo odvajanje, jer je bolest visoko infektivna i često rezistentna na terapiju. Trenutno ne postoji efikasna medikamentozna terapija za mikoplazmični mastitis, iako se zna da su neki antibiotici delotvorni *in vitro* – oksitetraciklin, tiamulin, tilozin, linkomicin, spektinomycin (Nicholas i Ayling, 2003). Zbog prirode infekcije, lečenje hronično obolelih životinja je često nezahvalan posao. Antibiotik, bez obzira koliko je dobar, ne može da proдре i obnovi organe koji su pogođeni teškim hroničnim bolestima. U praksi se zbog toga retko pribegava medikamentoznoj terapiji. Uklanjanje životinja sa pozitivnim nalazom na mikoplazme je put ka eliminaciji infekcije iz zapata (Boboš i Vidić, 2005).

Artritis: Pojava mikoplazmatskih artritisa je očekivana u zapatima krava sa enzootskim mikoplazmatskim mastitisima i pneumonijama, jer se mikoplazmatski artritis javlja uglavnom sekundarno kod inficiranih goveda zbog hematogenog širenja uzročnika (Gonzales i sar., 1993). Evidentan klinički znak mikoplazmatskog artritisa je naglašena hromost (Stokka i sar., 2001). Hromost koju izaziva *M. bovis* je tipično rezultat poliartritisa i tendosinovitisa.

Kod životinja se javlja bol prilikom pokreta i na dodir zahvaćenih zglobova. Zglobovi su topli na dodir i u njima se oseti tečnost. Pregledom se uočava fibrinozni sinovitis sa prisutnim oštećenjima na hrskavici. Kapsule napadnutih zglobova su napunjene mutnim, krem obojenim eksudatom koji često sadrži delove fibrina.

Za etiološku dijagnozu uzimaju se uzorci tkiva ili sinovijalna tečnosti. Terapija se odvija prema protokolu bilo kog septičnog artritisa. Preporučuje se ispiranje zahvaćenih zglobova tokom 1-2 nedelje. Koristi se lokalna antibiotska terapija. Sistemska antibiotska terapija se takođe preporučuje jer se artritis uglavnom javljaju zajedno sa mikoplazmatskim mastitisima i pneumonijama. Treba imati na umu da *Mycoplasma spp.* daju vrlo loš odgovor na antibiotsku terapiju. Antibiotici efikasni kod šepanja izazvanog mikoplazmama su danofloxacin, enrofloxacin i tilozin.

Mikoplazmoza je ozbiljan zdravstveni i ekonomski problem u tovištu junadi, i kod muznih krava kao uzročnik mastitisa. Terapija je komplikovan proces bez zagarantovanih pozitivnih rezultata. Oboljenje je zarazne prirode, širi se u zapatu, pa se mora držati stalno pod kontrolom. S obzirom na ove činjenice, mikoplazmoze se obično nalaze kao hronična oboljenja kod goveda i to u formi mastitisa i artritisa.

LITERATURA

1. Byrne, W., Markey B., McCormack R., Egan J., Ball H., Sachse K.: Persistence of *Mycoplasma bovis* infection in the mammary glands of lactating cows inoculated experimentally. *Vet. Rec.*, 156, 767–771, 2005.
2. Boboš S., Vidić B.: Mlečna žlezda preživara, morfologija-patologija-terapija. Novi Sad, 2005.
3. Ellis J.A.: The immunology of the bovine respiratory disease complex: *Vet Clin North Amer-Food Anim Prac* 17, 3, 535-550, 2001.
4. Enzootic Pneumonia of Calves. *Inf Dis of Cattle: Veterinary Learning Systems Co., Inc.* 1993.
5. Filioussis G, Christodouloupoulos G., Thatcher A., Petridou V., Bourtzis-Chatzopoulou E.: Isolation of *Mycoplasma bovis* from bovine clinical mastitis cases in Northern Greece *The Veterinary Journal* 173, 215–218, 2007.
6. Fox, L. K., Kirk J. H., Britten A.: *Mycoplasma mastitis: A review of transmission and control. J. Vet. Med. B, Infect. Dis. Vet. Public Health* 52, 153–160, 2005.
7. Gonzalez, R.N., Jayarao B.M., Oliver S.P., Sears P.M.: Pneumonia, arthritis and mastitis in dairy cows due to *Mycoplasma bovis*. In: *Proc. 32nd Annual Meeting of the National Mastitis Council*, pp 178-186, 1993.
8. Gonzalez, R.N., Wilson, D.J.: Mycoplasmal mastitis in dairy herds. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* 19, 199–221, 2003.

9. Henderson J.P., Ball H.J.: Polyarthritis due to *Mycoplasma bovis* infection in adult dairy cattle in Northern Ireland. *Vet Record* 145, 13, 374-376, 1999.
10. Nicholas R, Baker, R, Rayling, R et al: Mycoplasma infections in growing cattle. *Cattle Practice* 8, 2, 115-118. 2000.
11. Nicholas, R. A., Ayling R. D.: *Mycoplasma bovis*: Disease, diagnosis, and control. *Res. Vet. Sci.* 74, 105–112, 2003.
12. Pflitsch, A: Detection of *Mycoplasma bovis* by the use of Polymerase Chain Reaction (PCR). Doctoral thesis. Hanover: Veterinary School, 1994.
13. Razin S.: DNA probes and PCR in diagnosis of mycoplasma infections. *Mol Cell Probes*, 8, 497–511, 1994.
14. Rebhun W: Diseases of Dairy Cattle. Media, PA, Lippincott Williams and Wilkins, 1995.
15. Smith B: Large Animal Internal Medicine, 2nd ed. 1996.
16. Stokka G.L., Lechtenberg K., Edwards T. et al: Lameness in Feedlot Cattle. *Vet Clin North Amer-Food Animal Practice* 17, 1, 196-202, 2001.

Primljeno: 11.09.2012.

Odobreno: 01.11.2012.