

Wybrane aspekty patogenезы i leczenia ostrej postaci *Escherichia coli mastitis* u krów

Hanna Markiewicz

z Zakładu Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Bydgoszczy

Zapalenia wymienia wywołane przez *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. i *Enterobacter* spp. tworzą grupę tzw. coliform mastitis. Są to drobnoustroje środowiskowe, pałeczki Gram-ujemne, fermentujące laktozę i wykorzystujące ją jako źródło energii. Cechują się też zdolnością do przeżycia w prawie beztlenowych warunkach.

Populacja *E. coli* może ulegać podwojeniu co 20 minut (1, 2). Bakteria ta nie kolonizuje gruczołu mlekowego, ale pozostaje w świetle kanału i zatoki strzykowej oraz zatoki mlecznej, a nasilenie objawów klinicznych związane jest z ilością uwalnianego lipopolisacharydu (LPS, endotoksyny) podczas wzrostu i lizy komórek bakteryjnych (1). W gruczole mlekowym po wnikięciu *E. coli* odpowiedź organizmu w postaci reakcji zapalnej nie zostaje zainicjowana dopóki populacja bakterii nie osiągnie określonego progu (3). W warunkach terenowych *E. coli mastitis* może być zdiagnozowane około 12 godz. od początku zakażenia. W tym czasie pojawiają się objawy kliniczne. Podobnie w przypadku indukowanego *E. coli mastitis* pierwsze miejscowe objawy pojawiają się około 8 godzin po inokulacji bakterii, a objawy ogólne 4 godziny później. Blisko 25% krów z ostrym przebiegiem coliform mastitis pada lub jest brakovana. Bakteriemia najczęściej stwierdzana jest w okresie poporodowym (4).

Typowe *E. coli mastitis* cechuje się nagłym początkiem, utratą wydzielniczości przez ćwiartkę objętą zapaleniem, obrzękiem i bolesnością chorej ćwiartki oraz wzrostem temperatury ciała. Ciężki przebieg obserwowano najczęściej u krów w okresie okołoporodowym, częściej u wieloródek niż u pierwiastek.

Granulocyty obojętnochłonne (neutrofile) są kluczowymi komórkami chroniącymi gruczoł mlekowy przed zakażeniem. Ich liczba we krwi i mleku oraz stan funkcjonalny decydują o przebiegu *E. coli mastitis*. Funkcja neutrofilów we krwi ulega osłabieniu u krów po czwartym wycieleniu. W tym czasie wytwarzają one mniejsze ilości reaktywnych form tlenu (reactive oxygen species – ROS). Podobnie wybuch tlenowy neutrofilów różni się istotnie między pierwiastkami i wieloródkami. Wykazano, że przebieg eksperymentalnie

indukowanego *E. coli mastitis* w okresie poporodowym jest negatywnie skorelowany ze zmniejszeniem produkcji ROS i obniżeniem chemotaksji neutrofilów (5).

Szybki napływ neutrofilów do gruczołu mlekowego ma istotne znaczenie w zwalczaniu zakażenia. Przedostanie się drobnoustrojów do wnętrza wymienia powoduje aktywację tych komórek, a stan ten jest efektem kontaktu z czynnikami chemotaktycznymi, wytwarzanymi zarówno przez organizm gospodarza, jak i mikroorganizmy.

Zakażenia gruczołu mlekowego pałeczką *E. coli* cechują się spontaniczną eliminacją tych bakterii. Szybki spadek liczby bakterii w mleku ma miejsce w ciągu 8–24 godz. po zakażeniu. Po eksperymentalnie wywołanym *E. coli mastitis* u pierwiastek liczba krwinek białych we krwi, temperatura ciała, liczba komórek somatycznych w mleku oraz wszystkie objawy świadczące o dezintegracji bariery krew/mleko wracały do normy w ciągu 24–72 godzin po inokulacji *E. coli* P4:O32 (6).

Uwalniana endotoksyna (LPS) aktywuje przede wszystkim monocyty i makrofagi oraz aktywuje dopełniacz, co przyczynia się do rozwoju lokalnego odczynu zapalnego i eliminacji bakterii. Endotoksyna wywołuje też objawy ogólne, takie jak gorączka, spadek apetytu i zmniejszenie motoryki żwacza.

Endotoksyna znajduje się w ścianie bakterii Gram-ujemnych. Endotoksyny stanowią element wzorców molekularnych związanych z patogenami (patogen associated molecular pattern – PAMP) i wiązane są przez receptory obecne na komórkach obronnych. Endotoksyna w kompleksie z białkiem wiążącym lipopolisacharyd (lipopolysaccharide binding protein – LBP) wiąże się z receptorem CD14, obecnym między innymi na makrofagach, monocytach i neutrofilach. Reakcja ta powoduje wytwarzanie i uwalnianie mediatorów odczynu zapalnego. Komórkowe rozpoznanie endotoksyny odbywa się też za pośrednictwem błonowych receptorów TLR 4 (Toll-like receptors). Receptory Toll-podobne należą do receptorów rozpoznających wzorce patogenności (pattern recognition receptors – PRR). Uznaje się, że wskaźnikiem

Some aspects of pathogenesis and treatment of acute *Escherichia coli mastitis* in cows

Markiewicz H., Department of Pathophysiology of Reproduction and Mammary Gland, National Veterinary Research Institute, Bydgoszcz

This paper aims at the presentation of specific features of environmental mastitis related to the *Escherichia coli* infection in cows. *E. coli* mastitis and its treatment is of a great health importance and scientific interest over the years. This disease is difficult to treat and efficacy of the therapy is moderate. Antimicrobial susceptibility examination is of a little importance in the treatment decision. Conflicting results on the efficacy of treatment obtained by different authors confirm that the course of *E. coli* mastitis is determined primarily by factors related to the cow immune and metabolic profile. Pathogen-specific factors are less important. Systemic antibiotic treatment is recommended in moderate/severe cases of *E. coli* mastitis which suggest bacteremia.

Keywords: cow, mastitis, *E. coli*, treatment.

rozpoznania LPS przez komórki gospodarza jest obecność cząsteczki CD14 (zarówno w postaci błonowej, jak i rozpuszczalnej) i białka ostrej fazy – LBP (7).

Głównymi komórkami usuwającymi zarówno bakterie, jak i endotoksyny z gruczołu mlekowego są neutrofile. Czynnikiem wpływającym na przebieg *E. coli mastitis* w okresie poporodowym jest też aktywność hydrolazy acyloksyacylowej (AOAH), enzymu biorącego udział w detoksykacji LPS. Hydrolaza acyloksyacylowa zlokalizowana jest w ziarnistościach azurofilnych neutrofilii (8).

Stan zapalny wiąże się też z zewnątrzkomórkową kwasicą, będącą wynikiem:

- 1) hipoksji – niedotlenienia tkanek objętych zapaleniem i metabolicznej aktywności komórek zapalnych, co prowadzi do glikolizy i gromadzenia kwasu mlekowego oraz spadku pH;
- 2) masowego napływu neutrofilii i makrofagów oraz uwalniania protonów podczas wybuchu tlenowego;
- 3) akumulacji krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych wytwarzanych przez bakterie (9).

W prognozowaniu skuteczności leczenia *E. coli mastitis* istotnym czynnikiem jest czas zachorowania. Zachorowania na początku laktacji (1–2 miesiąc po porodzie) cechują się cięższym przebiegiem i niższym wskaźnikiem wyleczeń w porównaniu z *E. coli mastitis* występującym w okresie późniejszym. Wykazano też, że ciężkie przypadki, z objawami ogólnymi utrzymującymi się 3–5 dni są mało podatne na antybiotykoterapię. Dotyczy to

głównie krów cechujących się wysoką wydajnością, z niską liczbą komórek somatycznych w mleku (10, 11).

Terapia *E. coli mastitis* powinna być skierowana przeciwko rozwijającej się reakcji zapalnej indukowanej przez endotoksynę. W leczeniu ostrych postaci uwzględnia się stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych i kortykosteroidów, jak też iniekcje oksycytyny.

U krów z ciężką postacią *E. coli mastitis* zaleca się nawadnianie *i.v.* roztworem izotonicznym NaCl w ilości 30–40 l podanych w ciągu 4 godzin. W warunkach terenowych alternatywą jest dożylne podanie 2 l 7,2% roztworu NaCl, co powoduje szybkie przemieszczenie płynów z przestrzeni pozanaczyniowej do łożyska naczyniowego. Rozważać należy również wykonanie wlewu dożwaczowego wody w ilości 20–25 l. Wchłanianie wody może być jednak ograniczone ze względu na osłabioną motorykę żwacza.

W medycynie ludzi przetaczanie małych objętości 7,5% roztworu NaCl uważane jest za bezpieczną metodę zwiększenia objętości krwi krążącej. W badaniach doświadczalnych wykazano podobną skuteczność przeciwwstrząsową płynu Ringera, hipertonicznego roztworu NaCl oraz roztworu tej soli z dekstranem. W wyniku wlewu 7,5% roztworu NaCl widoczne jest między innymi zwiększenie objętości krwi krążącej, zwiększenie kurczliwości mięśnia sercowego, a w konsekwencji lepsze utlenowanie tkanek (12). W praktyce można wykorzystywać 10% roztwór NaCl, który rozcieńczamy w stosunku 3:1 z *aqua pro iniectione* lub 0,9% NaCl. Nie zaleca się jednak powtarzania wlewów hipertonicznych.

Łącznie z nawadnianiem podaje się podskórnie 500 ml 25% roztworu *Calcium borogluconatum* (13).

Szeroko używanym w ograniczaniu reakcji zapalnej jest deksametazon. Wykazano, że zmniejsza on aktywność fagocytarną neutrofilów i ich zdolność do chemiluminescencji, jak również cytotoksyczność (14). Jednym z mechanizmów przeciwzapalnego działania kortykosteroidów jest radykalne zmniejszenie ekspresji L-selektyny i cząstek adhezyjnych CD18 na neutrofilach, co hamuje migrację neutrofilów do miejsca objętego zapaleniem (15).

Podawanie glikokortykosteroidów może być korzystne, szczególnie we wczesnej fazie *E. coli mastitis*. Pojedyncza iniekcja zalecana jest w ciężkich przypadkach, w początkowej fazie choroby. Deksametazon w dawce 30 mg, podany *i.m.* lub octan isoflupredonu w dawce 10–20 mg, podany *i.m.*, przyczynia się do zmniejszenia obrzęku gruczołu mlekowego (16).

Inni autorzy (17) wykazali, że iniekcja octanu izoflupredonu krowom z indukowanym endotoksyną stanem zapalnym

gruczołu mlekowego nie miała wpływu na temperaturę ciała, motorykę żwacza i wygląd wymienia, jak również na produkcję mleka.

Niesteroidowe leki przeciwzapalne nie wpływają na szybkość ustępowania *mastitis* oraz na efektywność terapii. Indukują one natomiast zluszczenie L-selektyny z powierzchni neutrofilów, co powoduje zmniejszenie migracji tych komórek do gruczołu mlekowego. Wyjaśnia to spadek liczby komórek somatycznych w mleku po ich podaniu, co z punktu widzenia zdrowotności gruczołu mlekowego jest niekorzystne i nie wpływa na wzrost skuteczności leczenia. Wywierają one jednak efekt przeciwbólowy, istotny z punktu widzenia dobrostanu zwierzęcia (18).

Podanie megluminianu fluniksyny nie redukuje spadku mleczności typowego dla *E. coli mastitis*, wpływa natomiast na obniżenie temperatury ciała i wzrost motoryki żwacza. Nie jest jednak jednoznaczne, czy obniżenie gorączki jest korzystne u krów z naturalnie występującym *mastitis* (19). Wykazano też, że jednokrotna iniekcja megluminianu fluniksyny nie wpływa na stężenie haptoglobiny we krwi krów z *mastitis* (20).

Niesteroidowe leki przeciwzapalne częściowo selektywnie działające na cyklooksygenazę-2 (COX-2), takie jak meloksykam czy karprofen, cechują się po jednokrotnej iniekcji przede wszystkim działaniem przeciwgorączkowym i poprawiającym motorykę żwacza. Nie wykazano istotnego wpływu iniekcji karprofenu na stężenie mediatorów stanu zapalnego, takich jak IL-8 i C5a (21).

Podjęto również próby leczenia *mastitis* marbofloksacyną 2 mg/kg m.c., przez 3 kolejne dni uzupełnionej jednokrotną iniekcją kwasu tolfenamowego (2 mg/kg m.c.) i infuzją roztworu izotonicznego lub hipertonicznego NaCl. O normalizacji większości klinicznych parametrów decydował przede wszystkim czas od zachorowania. Wykazano, że iniekcja niesteroidowego leku przeciwzapalnego łącznie z płynoterapią daje większe prawdopodobieństwo poprawy apetytu niż tylko nawadnianie. Iniekcja kwasu tolfenamowego wiązała się tylko z obniżeniem temperatury ciała w ciągu pierwszych 12 godz. po iniekcji. Po 3 tygodniach od zachorowania wyniki badania bakteriologicznego wszystkich próbek mleka pobranych od krów z *E. coli mastitis* były ujemne, niezależnie od podjętego leczenia uzupełniającego (22). W badaniach eksperymentalnych łączono również antybiotykoterapię (enrofloksacyna 5 mg/kg m.c., *i.v.*, a następnie przez 2 kolejne dni 5 mg/kg m.c., *s.c.*) z jednokrotną iniekcją megluminianu fluniksyny w dniu rozpoczęcia leczenia. U zwierząt otrzymujących enrofloksacynę i niesteroidowy

lek przeciwzapalny obserwowano szybszą eliminację bakterii w porównaniu do krów, którym podawano tylko megluminian fluniksyny. Nie była to jednak różnica istotna (23).

Terapia antybiotykowa powinna być naceLOWANA, to znaczy uwzględniająca miejsce bytowania patogenu oraz jego wrażliwość na antybiotyki. W przypadku *E. coli mastitis* o przebiegu ostrym należy wziąć pod uwagę możliwość wystąpienia bakteriemii, która stwierdzana jest u 32–45% zwierząt. Upadki dotyczą jednak krów zarówno z bakteriami, jak i bez niej (24, 25). W przypadku coliform *mastitis* antybiotykowrażliwość bakterii nie jest czynnikiem ograniczającym terapię. Leczenie naceLOWANE na podstawie antybiotykogramu nie wpływa na wzrost skuteczności leczenia klinicznych postaci *mastitis* (26), a zasadność stosowania leczenia dowymienowego w ciężkich przypadkach *E. coli mastitis* jest też dyskusyjna.

Wykazano, że aplikacja dowymienowa antybiotyków skutecznych *in vitro* nie poprawia wskaźnika wyleczeń i nie wpływa na eliminację bakterii w przypadkach spontanicznego i indukowanego coliform *mastitis* w porównaniu do krów nieleczonych (27). Indukowane coliform *mastitis* leczono dwiema metodami:

- 1) trimetoprimem w połączeniu z sulfadiazyną (TMS) podawanymi ogólnie, jako metodą z wyboru (TMS – 48 mg/kg m.c. pierwsza iniekcja *i.v.*, a następnie trzykrotne iniekcje domięśniowe, co 12 godz.),
- 2) antybiotykiem aplikowanym dowymienowo, cechującym się neutralizacją endotoksyn w mleku (siarczan kolistyny – 6 mln jednostek, trzykrotnie, co 12 godz.).

Nie stwierdzono istotnych różnic co do liczby bakterii w mleku między krowami nieleczonymi (eliminacja bakterii w ciągu 7 dni, mediana = 5) a leczonymi przy użyciu antybiotyków podawanych dowymienowo (5 dni, mediana = 4) i chemioterapeutyków podawanych ogólnie (7 dni, mediana = 2,5).

Aktywność trimetoprimu w połączeniu z sulfonamidem w mleku jest bardzo ograniczona ze względu na trudność w osiągnięciu oraz utrzymaniu stężenia terapeutycznego (28).

Dotyczy to też oksytetracykliny, której skuteczność w leczeniu *E. coli mastitis* nie jest jednoznaczna (29). Aktywność tego antybiotyku w mleku jest ograniczona z racji tworzenia chelatów tetracykliny z kazeiną. Wykazano 16-krotny wzrost MIC oksytetracykliny dla *E. coli* w mleku surowym, w porównaniu z podłożem bakteriologicznym Muller-Hinton (30, 31). Również aktywność makrolidów w mleku jest znacznie zmniejszona (32). Po parenteralnym

podaniu benzylopenicyliny prokainowej, enrofloksacyny i spiramycyny procent wyleczeń w grupie leczonej i nieleczonej był podobny (74 v. 71%). Wyniki te uzyskano w badaniach terenowych (33).

W leczeniu eksperymentalnie indukowanego *E. coli mastitis* stosowano dowymieniowo gentamycynę, którą aplikowano 4× co 12 godz. po 500 mg (łącna dawka 2 g). Czas trwania zakażenia był podobny u krów leczonych i nieleczonych (34).

W leczeniu ostrych postaci *mastitis* w okresie poporodowym preferuje się parenteralne podawanie antybiotyków ze względu na możliwość wystąpienia bakteriemii oraz obrzęk ćwiartek dotkniętych zapaleniem. Cefalosporyny trzeciej (ceftiofur, cefoperazone) i czwartej generacji (cefquinom) ze względu na szerokie spektrum działania i krótki okres karencji na mleko są często stosowane w leczeniu *E. coli mastitis*.

W terapii *E. coli mastitis* łączy się też leczenie antybakteryjne miejscowe i ogólne, co pozwala osiągnąć stężenie terapeutyczne antybiotyku we wszystkich przedziałach/obszarach gruczołu mlekowego. W badaniach *in vitro* wykazano, że stężenie np. cefquinomu po aplikacji dowymieniowej ulega obniżeniu wraz ze zwiększaniem odległości od kanału strzykowego, natomiast po podaniu drogą pozawymieniową jego stężenie w tkance gruczołowej jest bardziej wyrównane. Cefquinom przenika jednak barierę krew–mleko w bardzo ograniczonym zakresie, co jest czynnikiem limitującym jego dystrybucję do gruczołu mlekowego (35, 36). Należy jednak brać pod uwagę, że bariera krew–mleko jest bardziej przepuszczalna w gruczole mlekowym z tocącym się ostrym stanem zapalnym niż w zdrowym. W badaniach klinicznych wykazano, że podawanie tego antybiotyku równocześnie miejscowo i ogólnie krowom z *E. coli mastitis* daje wysoki wskaźnik wyleczeń bakteriologicznych (37).

Ceftiofur nie przenika bariery krew–mleko, stąd nie ma karencji na mleko po jego podaniu. W eksperymentalnie wywołanym *E. coli mastitis* ceftiofur nie zdołał wyeliminować bakterii z gruczołu mlekowego, natomiast w badaniach terenowych podawany *i.m.* w dawce 2,2 mg/kg m.c./dzień przez 5 dni, łącznie z pirlimycyną aplikowaną dowymieniowo trzykrotnie co 24 godz., krowom z ciężkim przebiegiem *E. coli mastitis* zmniejszył ryzyko brakovania krów. W grupie leczonej tylko dowymieniowo upadki wynosiły 37%, podczas gdy w grupie otrzymującej dodatkowo ceftiofur 14% (38).

W leczeniu *mastitis* wywołanym przez pałeczki z rodziny Enterobacteriaceae z powodzeniem stosuje się też fluorochinolony. Marbofloksacyna należy do

fluorochinolonów trzeciej generacji. Cechuje się ona dużą biodostępnością po podaniu parenteralnym z racji właściwości amfoterycznych, jak również osiąga podobne stężenie w surowicy i mleku. Mleko nie wpływa na aktywność bakterio-bójczą tego antybiotyku (39). W leczeniu z dużym powodzeniem wykorzystywano połączenie parenteralnie podawanej marbofloksacyny z dowymieniową aplikacją kloksacyliny (40).

Podobną farmakodynamiką cechuje się enrofloksacyna. Uważa się, że enrofloksacyna jest jedynym antybiotykiem (obok sulfadiazyny), który nie zmienia cząstek adhezyjnych na powierzchni granulocytów obojętnochłonnych podczas *E. coli mastitis*, jak też ma właściwości immunomodulujące poprzez wzrost zdolności bójczych tych komórek. Po podaniu *i.v.* tego antybiotyku krowom ze stanem zapalnym gruczołu mlekowego, indukowanym *E. coli* bezpośrednio po porodzie, nie uzyskano poprawy ogólnego stanu klinicznego. Jedynie miejscowy odczyn zapalny był słabiej wyrażony (41).

Podobnie danofloksacyna, ze względu na swoje właściwości farmakokinetyczne (rozpuszczalność w tłuszczach, wiązanie z białkami, stopień jonizacji) bardzo dobrze przedostaje się do mleka (42). Oceniając skuteczność tego fluorochinolonu w leczeniu ostrej postaci indukowanego *E. coli mastitis*, wykazano szybszą eliminację bakterii z gruczołu mlekowego krów, którym jednokrotnie podano *i.v.* danofloksacynę (6 mg/kg m.c.) w porównaniu do zwierząt nieleczonych. Procent wyleczeń bakteriologicznych w 14 i 21 dniu po leczeniu był jednak podobny w obu grupach. U krów leczonych obserwowano natomiast w tym okresie niższą liczbę komórek somatycznych w mleku, mniejszy spadek produkcji mleka oraz słabiej wyrażone cechy zapalenia (43).

Wykazano, że skuteczność leczenia dowymieniowego klinicznych postaci *mastitis* była podobna, niezależnie, czy wyizolowane szczepy były odporne, czy wrażliwe na zastosowany antybiotyk (44).

W leczeniu *E. coli mastitis* stosowano też, z bardzo dobrymi wynikami, irygacje gruczołu mlekowego roztworami soli fizjologicznej i wody ozonowanej. Robiono kilkakrotne wlewy tych roztworów w ilości 1–3 l. Skuteczność obu roztworów była podobna. Krowy objęte tym postępowaniem dodatkowo otrzymywały niesteroidowe leki przeciwzapalne i płyny nawadniające. Porównując ten sposób postępowania z antybiotykoterapią stosowaną parenteralnie (cefazolina 5 mg/kg m.c., penicylina α -aminobenzylowa 8 mg/kg m.c., kanamycyna 10 mg/kg m.c., enrofloksacyna 5 mg/kg m.c.), wykazano istotnie wyższy wskaźnik wyleczeń, jak też powrót

mleczności w ćwiartkach objętych zapaleniem w grupie, w której wykonywano irygacje (45). Skuteczność tego postępowania tłumaczono wypłukiwaniem z wymienia endotoksyn i bakterii. Obserwacje kliniczne również wskazują, że częste zdajanie jest korzystne dla procesu leczenia. Nie znalazło to jednak potwierdzenia w innych badaniach terenowych i eksperymentalnych (46, 47). Bolesność ćwiartki objętej zapaleniem i znaczny obrzęk mogą ograniczać ten sposób postępowania.

W leczeniu *mastitis* preferowane są antybiotyki bakterio-bójcze, ze względu na osłabione zdolności fagocytarne neutrofilii w gruczole mlekowym. Stosowanie antybiotyków bakterio-bójczych niesie za sobą niebezpieczeństwo związane z uwalnianiem dużych ilości LPS podczas lizy komórek bakteryjnych. Ten aspekt stosowania antybiotyków u zwierząt, w przypadkach zakażeń wywołanych pałeczkami Gram-ujemnymi, nie jest brany pod uwagę. Może mieć jednak wpływ na wyniki leczenia. W badaniach *in vitro* wykazano, że spadek liczby bakterii, będący wynikiem stosowania antybiotyków, wiąże się ze wzrostem stężenia endotoksyn (48).

Zwraca się uwagę, że wysokie stężenie antybiotyków, będące wynikiem zarówno aplikacji parenteralnej, jak i dowymieniowej, wywiera supresyjny wpływ na funkcję neutrofilii zarówno w mleku, jak i w krwi (49). Obserwuje się to szczególnie w ćwiartkach objętych obrzękiem, w których dystrybucja leku jest ograniczona, a wysokie stężenie antybiotyku może hamować fagocytozę, główny czynnik wpływający na przebieg zakażenia wywołanego przez *E. coli*. Stąd zwiększanie dawki antybiotyków aplikowanych dowymieniowo, czy też parenteralnie lub wydłużanie terapii w przypadku coliform *mastitis* nie przynosi oczekiwanych rezultatów.

Rozważając przyczyny niepowodzeń w leczeniu, skupiamy się głównie na antybiotykooporności patogenów wywołujących stan zapalny wymienia, co w przypadku *E. coli mastitis* ma znaczenie drugorzędne. Pomijamy często stan równowagi kwasowo-zasadowej krwi, mający istotny wpływ na zdolność fagocytarne granulocytów obojętnochłonnych, warunkujące zdrowotność wymienia. Często również obserwuje się rozbieżność między wynikami badań *in vitro* dotyczącymi antybiotykowrażliwości patogenów izolowanych z wydzieliny zapalnej gruczołu mlekowego a rezultatami badań klinicznych co do skuteczności leczenia *mastitis*. Mleko/wydzielina zapalna jest całkowicie różnym środowiskiem dla działania antybiotyku niż podłoża używane w badaniach mikrobiologicznych, stwarzające optymalne warunki wzrostu dla drobnoustrojów i ich kontaktu z antybiotykiem.

Oceniając antybiotykooporność danego patogenu, czy to metodą dyfuzji w żelu agarowym, czy też określając MIC, oceniamy jego działanie bakteriostatyczne, a nie bakteriobójcze.

Sprzeczne wyniki odnośnie do skuteczności leczenia, uzyskane przez różnych badaczy potwierdzają, że o przebiegu *E. coli mastitis* decydują przede wszystkim czynniki zależne od zwierzęcia, jego profilu immunologicznego i metabolicznego. Czynniki swoiste dla patogenu są mniej istotne.

Piśmiennictwo

- Burvenich Ch., Van Merris V., Mehrzd J., Diez-Fraile A., Duchateau L.: Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Vet. Rec.* 2003, **34**, 521-564.
- Hogan J., Smith K.: Coliform mastitis. *Vet. Res.* 2003, **34**, 507-519.
- Shuster D., Kehrl M. Jr, Rainard P., Paape M.: Complement fragment C5a and inflammatory cytokines in neutrophil recruitment during intramammary infection with *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 1997, **65**, 3286-3292.
- Dosogne H., Meyer E., Sturk A., van Loon J., Massart-Leën A., Burvenich C.: Effect of enrofloxacin treatment on plasma endotoxin during bovine *Escherichia coli* mastitis. *Inflamm. Res.* 2002, **51**, 201-205.
- Paape M., Mehrzd J., Zhao X., Detilleux J., Burvenich Ch.: Defense of the bovine mammary gland by polymorphonuclear neutrophil leukocytes. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 2002, **7**, 109-119.
- Vangroenweghe F., Duchateau L., Burvenich C.: Moderate inflammatory reaction during experimental *Escherichia coli* mastitis in primiparous cows. *J. Dairy Sci.* 2004, **87**, 886-895.
- Mierzchała M., Lipińska-Gediga M., Durek G.: Rola LBP w transdukcji sygnału indukowanego LPS i w modulacji odpowiedzi układu immunologicznego. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2006, **15**, 127-134.
- McDermott C., Cullor J., Fenwick B.: Intracellular and extracellular enzymatic deacylation of bacterial endotoxin during localized inflammation induced by *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 1991, **59**, 478-485.
- Burgos R., Conejeros I., Hidalgo M., Werling D., Hermsilla C.: Calcium influx, a new potential therapeutic target in the control of neutrophil-dependent inflammatory diseases in bovines. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2011, **143**, 1-10.
- Lohuis J., Hensen S., Pavicic M.: The balance of forces in pathogenesis and therapy of mastitis. *IDF Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland*, Stresa 2000, p. 298-306.
- Smits E., Cifrian E., Guidry A., Rainard P., Burvenich C., Paape M.: Cell culture system for studying bovine neutrophil diapedesis. *J. Dairy Sci.* 1996, **79**, 1353-1360.
- Ratajczak J., Szczepanik A., Meissner A., Ostas A., Wiszniewski A., Bilski R.: Porównanie wpływu przetoczeń małych objętości 7,5% roztworu NaCl lub 6% roztworu hydroksyetylowanej skrobi na zaburzenia hemodynamiczne, morfologiczne i elektrolitowe u chorych ze śródoperacyjną, ostrą utratą krwi krążącej. *Anestezjologia Intensywna Terapia* 2009, **1**, 6-10.
- Erskine R., Bartlett P., VanLente J., Phipps C.: Efficacy of systemic ceftiofur as a therapy for severe clinical mastitis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2002, **85**, 2571-2575.
- Roth J., Kaerberle M.: Effects of in vivo dexamethasone administration on in vivo polymorphonuclear leukocyte function. *Infect. Immun.* 1981, **33**, 434-441.
- Burton J., Kehrl J., Kapil S., Horst R.: Regulation on L-selectin and CD18 on bovine neutrophils by glucocorticoids: effects of cortisol and dexamethasone. *J. Leukoc. Biol.* 1995, **57**, 317-325.
- Erskine R., Wagner S., DeGraves E.J.: Mastitis therapy and pharmacology. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 2003, **19**, 109-38.
- Wagner S., Apley M.: Pharmacodynamics of isoflupredone acetate in an endotoxin-induced mastitis model. *J. Dairy Sci.* 2003, **86**, 792-798.
- Yeiser E., Leslie K., McMillard M., Petersson-Wolfe C.: The effects of experimentally induced *Escherichia coli* mastitis and flunixin meglumine administration on activity measures, feed intake, and milk parameters. *J. Dairy Sci.* 2012, **95**, 4939-4949.
- Wagner S., Apley M.: Effects of two anti-inflammatory drugs on physiologic variables and milk production in cows with endotoxin-induced mastitis. *Am. J. Vet. Res.* 2004, **65**, 64-68.
- Young F.J., Fitzpatrick J.L., Eckersall P.D., Logue D.N., Knight C.J., Nolan A.M.: Recognising and controlling pain and inflammation in bovine mastitis. *IDF Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland*, Stresa, 2000, 345-346.
- Vangroenweghe F., Duchateau L., Boutet P., Lekeux P., Rainard P., Paape M. J., Burvenich C.: Effect of carprofen treatment following experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in primiparous cows. *J. Dairy Sci.* 2005, **88**, 2361-2376.
- Podstatzky L., Hofrichter H., Schleicher C., Winter P.: Field study on acute mastitis with SIRS and different treatment regimes. *International Conference Udder Health and Communication*. Utrecht, 25-27 October 2011, 285-292.
- Rantala M., Kaartinen L., Välimäki E., Stryman M., Hiekkaranta M., Niemi A., Saari L., Pyörälä S.: Efficacy and pharmacokinetics of enrofloxacin and flunixin meglumine for treatment of cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 2002, **25**, 251-258.
- Cebra C., Garry F., Dinsmore R.: Naturally occurring acute coliform mastitis in Holstein cattle. *J. Vet. Intern. Med.* 1996, **10**, 252-257.
- Wenz J., Barrington G., Garry F., McSweeney K., Dinsmore R., Goodell G., Callan R.: Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2001, **7**, 976-981.
- Lehtolainen T., Shwimmer A., Shpigel N., Honkanen-Buzalski T., Pyörälä S.: In vitro antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolates originating from clinical mastitis in Finland and Israel. *J. Dairy Sci.* 2003, **86**, 3927-3932.
- Pyörälä S., Kaartinen L., Käck H., Rainio V.: Efficacy of two therapy regimens for treatment of experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in cows. *J. Dairy Sci.* 1994, **77**, 453-461.
- Kaartinen L., Löhönen K., Wiese B., Franklin A., Pyörälä S.: Pharmacokinetics of sulphadiazine-trimethoprim in lactation cows. *Acta Vet. Scand.* 1999, **40**, 271.
- Constable P., Morin D.: Treatment of clinical mastitis using antimicrobial susceptibility profiles for treatment decisions. *Food Animal Practice* 2003, **19**, 139-155.
- Kuang Y., Jia H., Miyayama K., Tanji Y.: Effect of milk on antibacterial activity of tetracycline against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2009, **84**, 135-142.
- Lents C., Wettemann R., Paape M., Vizcarra J., Looper M., Buchanan D., Lusby K.: Efficacy of intramuscular treatment of beef cows with oxytetracycline to reduce mastitis and to increase calf growth. *J. Anim. Sci.* 2002, **80**, 1405-1412.
- Fang W., Pyörälä S.: Mastitis causing *Escherichia coli*: serum sensitivity and susceptibility to selected antibacterials in milk. *J. Dairy Sci.* 1996, **79**, 76-82.
- Pyörälä S. and Pyörälä E.: Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1998, **212**, 407-412.
- Erskine R., Wilson R., Riddell M., Tyler J., Spears H., Davis B.: Intramammary administration of gentamicin as treatment for experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in cows. *Am. J. Vet. Res.* 1992, **53**, 375-381.
- Ehinger A., Schmidt H., Kietzmann M.: Tissue distribution of ceftiofur after intramammary and "systemic" administration in the isolated perfused bovine udder. *Vet. J.* 2006, **172**, 147-153.
- Kietzmann M., Braun M., Schneider M., Pankow R.: Tissue distribution of marbofloxacin after 'systemic' administration into the isolated perfused bovine udder. *Vet. J.* 2008, **178**, 115-118.
- Shpigel N., Levin D., Winkler M., Saran A., Ziv G., Böttner A.: Efficacy of ceftiofur for treatment of cows with mastitis experimentally induced using *Escherichia coli*. *J. Dairy Sci.* 1997, **80**, 318-323.
- Erskine R., Bartlett P., VanLente J., Phipps C.: Efficacy of systemic ceftiofur as a therapy for severe clinical mastitis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2002, **85**, 2571-2575.
- Schneider M., Vallé M., Woehrlé F., Boisramé B.: Pharmacokinetics of marbofloxacin in lactating cows after repeated intramuscular administrations and pharmacodynamics against mastitis isolated strains. *J. Dairy Sci.* 2004, **87**, 202-211.
- Grandemange E., Davot J.: Field evaluation of the efficacy of marbofloxacin in the treatment of acute mastitis due to Gram-Negative bacteria in the dairy cow. *Cattle Practice* 2002, **10**, 57-62.
- Hoeben D., Monfardini E., Burvenich C., Hamann J.: Treatment of acute *Escherichia coli* mastitis in cows with enrofloxacin: effect on clinical signs and chemiluminescence of circulating neutrophils. *J. Dairy Res.* 2000, **67**, 485-502.
- Mestorino N., Marchetti M., Turic E., Pesoa J., Errecalde J.: Concentrations of danofloxacin 18% solution in plasma, milk and tissues after subcutaneous injection in dairy cows. *Anal. Chim. Acta* 2009, **33**, 637-639.
- Poutrel B., Stegeman M., Roy O., Pothier F., Tilt N., Payne-Johnson M.: Evaluation of the efficacy of systemic danofloxacin in the treatment of induced acute *Escherichia coli* bovine mastitis. *J. Dairy Res.* 2008, **75**, 310-318.
- Hoe F., Ruegg P.: Relationship between antimicrobial susceptibility of clinical mastitis pathogens and treatment outcome in cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2005, **227**, 1461-1468.
- Shinozuka Y., Hirata H., Ishibashi I., Okawa Y., Kasuga A.: Therapeutic efficacy of mammary irrigation regimen in dairy cattle diagnosed with acute coliform mastitis. *J. Vet. Med. Sci.* 2009, **71**, 269-273.
- Leininger D., Roberson J., Elvinger F., Ward D., Akers R.: Evaluation of frequent milkout for treatment of cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2003, **222**, 63-66.
- Roberson J., Warnick L., Moore G.: Mild to moderate clinical mastitis: Efficacy of intramammary amoxicillin, frequent milk-out, a combined intramammary amoxicillin and frequent milk-out treatment versus no treatment. *J. Dairy Sci.* 2004, **87**, 583-592.
- Prins J., van Deventer S., Kuijper E., Speelman P.: Clinical relevance of antibiotic-induced endotoxin release. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1994, **38**, 1211-1218.
- Hoeben D., Burvenich C., Heyneman R.: Antibiotics commonly used to treat mastitis and respiratory burst of bovine polymorphonuclear leukocytes. *J. Dairy Sci.* 1998, **81**, 403-410.