

## תגובות פיסולוגיות וחיסוניות של בלוטת העטין בשלבים המוקדמים לאחר הדבקה תוך-עטינית עם סטפילוקוקוס אוראוס

ג. לייטנר, י. לובשבסקי\*, א. קריפוקס\*, מ. שפר, א. גליקמן, מ. וינקלר, ל. ויסבלט, ר.א. שרן

המחלקה למחלות עטין, המרכז הארצי לבריאות העטין, והמחלקה לאימונולוגיה\* המכון הווטרנרי ע"ש קמרון, בית דגן

ע. שושני, ע. ברמן

הפקולטה לחקלאות רחובות, האוניברסיטה העברית

הרב שהצטבר בשנים רבות של עבודה על מחלות עטין בכלל ודלקות עטין הנגרמות על ידי סטפ' אוראוס בפרט מתייחס בעיקרו למצב בו המחלה מגיעה לשלב הכרוני, שלב בו החידק "יושב" ברקמות העטין, מתחלק ומתרבה, וגורם לנוק ישיר ברקמת ייצור החלב (Gudding Nickerson 1989, et al 1991). כתוצאה מכך חלה ירידה בכמות החלב וכן נוק עקיף ברמת איכות החלב המתבטא בעליה בתאים סומטיים (רת"ס).

הדבקת עטיני פרות בחידק סטפ' אוראוס בוצעה במחקרים שונים (Sears et al 1990; Nickerson 1989; Paape 1991; Schukken et al 1994; Kehrlı Shuster 1994). במחקרים אלה ההדבקה בוצעה בחידק רפרנטי (Newbould 305). בניסויים אלה ואחרים נמצא, כי בעקבות ההדבקה חלה עליה ברמת"ס, בעיקר בתאים פולי-מורפונוקלארים (PMN). רמה זאת לא נשארה קבועה והשתנתה בהתאם למספר החידקים המופרשים בחלב. נמצא מתאם הפוך בין מספר החידקים בחלב ובין הרמת"ס – עליה במספר החידקים לאחר ירידה ברמת"ס (Daley et al 1989). נמצא עוד, כי בפרות בהן הרמת"ס היה מעל רמה מסויימת ההצלחה בהדבקה מלאכותית של הפרות היתה נמוכה (Schukken et al 1994). נוכחות החידק לאורך זמן וחוסר יכולת סילוקו ונובעות כנראה מפגיעה ו/או חוסר יכולת של התאים הבלעניים לבצע את תהליך הבליעה ו/או ההרג של החידק, כתוצאה משוני בהרכב/מבנה החלב – עליה במיצלות של שומן, חוסר בגלוקוז או חמצן וגורמים

### מבוא

מחלת העטין הכרונית מהווה בעיה חמורה במשק החלב והאמצעים למניעת המחלה מורכבים ובמקרים רבים בלתי יעילים. **לסטפילוקוקוס אוראוס** מקום מרכזי בגרימת המחלה. חשיבותו ביכולתו להתקיים בעדר גם כאשר רמת הממשק וההיגיינה ממוצעת ואף למעלה מזה. הנוקים הכלכליים הנגרמים כתוצאה מחידק זה הם מהגדולים ביותר למשק החלב. הנוק המוערך כתוצאה מדלקות עטין נע בין 200 – 120 US\$/לפרה/לשנה (Schutz 1994). למרות שנים רבות של מחקר אינטנסיבי בכל רחבי העולם, קשה להצביע על מדיניות ממשקית וטיפולית אשר הצליחה להתגבר על כושר ההישרדות של סטפ' אוראוס כגורם מרכזי במחלות העטין. מבחינה זאת יש להתייחס לסטפ' אוראוס באופן ייחודי כאשר גורמי המחלה האחרים אינם משתווים לסטפ' אוראוס מבחינת יכולתם לשרוד. אמנם מבחינה קלינית גם לסטרפטוקוקים וגם לקוליפורמים יכולת גבוהה לגרום למחלה, במקרים רבים חריפה ואלימה מאד, אך בדרך כלל התגובה לגורמי המחלה הנ"ל טובה יותר הן בטיפול בשלב החריף והן במדיניות פיקוח כוללת בעדר הנגוע. במקרים מסויימים כושר ההתאמה של סטפ' אוראוס לרקמות בעטין הוא כה גבוה, שגם במשטר טיפול אינטנסיבי אין שינוי ברמת הנגיעות.

שיפור התגובה החיסונית בדלקות עטין קשורה במידה מכרעת ביכולת העטין לזהות במהירות וביעילות את הגורם לדלקת. הידע

נקיון התרבית נבחן מחדש על ידי זריעה במצע אגר דם. מספר החידקים בתרחיף נקבע על ידי סדרה של מיהולים, זריעתם על מצע אגר דם והדגרה למשך הלילה. תרחיף החידקים נשמר בקרח במקרר למשך הלילה. ביום ההדבקה בוצעו ספירה של מספר המושבות בתרחיף המקור והתרחיף נמהל בתמיסת סלין (pyrogen free saline) למיהול הרצוי (מפורט בכל ניסוי). התרחיף להדבקה נבחן למספר החידקים האמיתי לפני ואחרי ההדבקה.

#### דיגום

כל בדיקות החלב נלקחו באותו אופן – חלב הומוגני של כל רבע בנפרד פרט לדוגמאות עבור הבדיקות הבקטריולוגיות. הדוגמאות נלקחו בזמן חליבת הבוקר פרט לדוגמאות שנלקחו ב-24 השעות הראשונות לאחר ההדבקה. כל עטין נוקה וחוטא, שלושה צליפים של חלב הוצאו מכל רבע והפטמה חוטאה שנית. צלף (3–5 מ"ל) חלב נחלב למבחנה סטרילית והועבר לקרח. בניסוי 1 הפרה נחלבה באמצעות מתקן איסוף של כל רבע בנפרד לצונצנת וכמות החלב נמדדה בסוף התחלובה. לאחר ערבוב החלב בצונצנת 100 מ"ל החלב עבר כל הבדיקות הפיסיולוגיות והחיסוניות. בשני הניסויים הנוספים לאחר חליבת החלב עבור הבדיקות הבקטריולוגיות נחלבו 50 מ"ל נוספים וחלב זה שימש עבור ערכת בדיקות החלב.

#### ערכת בדיקות פיסיולוגיות וחיסוניות

כל דוגמת חלב חולקה לאחר ערבוב עדין למספר בדיקות שכללו: רת"ס, חלבון, שומן וגלוקוז (נקבעו באמצעות מכשיר Fossomatic 360 (התאחדות מגדלי בקר, קיסריה). בחלק מהניסויים הרת"ס נקבע גם באמצעות מכשיר Coulter counter (Coulter Electronics Limited, Luton, England).

רמת אנזים N-acetyl-b-D-glucosaminidase (NAGase) (Applied Diagnostics Corporation) לפי שיטתו של Kitchen (1981) ושינויים של Mattila (1985).

מעכבים בחלב (Williams and Niemaltowsk et al 1988; Craven, 1985).

במחקר זה ביצענו הדבקה של פרות בחידק מקומי ומעקב מזמן ההדבקה ועד להבראת העטין או מעבר למצב כרוני. המעקב כלל בדיקות בקטריולוגיות, הרכב וכמות החלב ובדיקות פרטניות לגבי הרת"ס, ספירה מבדלת של הרת"ס, ופעולות התאים הפגוציטריים ביכולתם לבלוע חידקים *in vivo* ו-*in vitro*.

#### חומרים ושיטות

##### בעלי חיים

שתיים עשרה מבכירות ממשקים שונים בארץ וכן שתי פרות בתחלובה שלישית מרפת וולקני שימשו שלושה ניסויי הדבקה. כל המבכירות נבחנו טרם הבאתן לרפת וולקני לנוכחות מזהמים חידקיים בעטין ונמצאו ללא כל ממצא או עם חידקים המוגדרים כבלתי פתוגניים וכן נמצאו עם רת"ס נמוך מ-70,000. עטיני הפרות נבחנו לאותם המדדים לפני הניסוי ונמצאו ללא כל ממצא או עם חידקים המוגדרים כבלתי פתוגניים וכן עם רת"ס בין 250,000 ל-500,000.

##### בדיקות בקטריולוגיות

נוכחות חידק בחלב נקבעה במעבדה למחלות עטין בשיטות בקטריולוגיות באמצעות זריעת דוגמאות החלב על אגר דם והגדרת המושבה לאחר הדגרה ב-37 מע"צ למשך הלילה. מספר החידקים בחלב לדוגמה חיובית נקבע באמצעות סדרה של מיהולים וספירת המושבות על פלטות אגר דם.

##### חידק

חידק סטפ' אוראוס מקומי (בודד והוגדר במעבדה) שימש להדבקות. תשעים ושש שעות לפני כל ניסוי הדבקה, חידק מקור (יבוש) הורחף במצע גידול והודגר למשך הלילה ב-37 מע"צ. תרחיף החידקים נזרע על אגר דם ולאחר הדגרה נבחן נקיון התרבית. ארבעים ושמונה שעות לפני ההדבקה, נלקחו מספר מושבות והועברו למצע נוזלי (Tripticase Soy Broth).

לרפת במכון וולקני. בלוטות העטין בארבעה הפרות נמצאו ללא זיהום חידיקי ורת"ס נמוך – עד  $80 \times 1000$ . ממצאים אלה נקבעו על פי שלוש בדיקות עוקבות, שלושה שבועות לפני הבאתן לרפת מכון וולקני. פרות אלה שוכנו במבנה מבודד לשם איקלום במשך 10 ימים. בשלושת הימים שלפני ההוקעה נבחנו הפרות כל בוקר עבור כל המדדים ונקבע הבסיס עבור כל מדד בטרם ההדבקה. ההדבקה בוצעה לאחר חליבת בוקר ב-2 רבעים בכל פרה (בהצלבת רבע 3–1) באמצעות מזרק עם קפולרה גמישה. הקפולרה הוחדרה לפטמה (1 cm) ו-2000 חידיקי סטפ' אוראוס מורחפים ב-1 מ"ל תמיסת מלח (pyrogen free) הוזרקו לבלוטת העטין. לאחר ההדבקה חזרו הפרות למשטר חליבה רגיל. כל בלוטות העטין (בלוטות העטין המודבקות, והביקורת – לא מודבקות) נבחנו במועדים להלן לאחר ההדבקה: עשרים וארבע שעות ושלושה ימים בשבוע הראשון, פעמיים בשבוע בשבועות השני והשלישי ופעם בשבוע הרביעי והחמישי עבור כל המדדים – בקטריאליים, פיסיולוגיים וחיסוניים.

## ניסוי 2

נבחרו לניסוי 2 פרות בוגרות מרפת וולקני עם נוכחות חידיקים המוגדרים כבלתי פתוגניים ועם רת"ס בינוני עד גבוה. הפרות נבחנו שלוש פעמים לפני ההדבקה עבור כל המדדים כבניסוי 1. הפרות הודבקו באותה הדרך כבניסוי 1 במספר חידיקים של 3800. ובעקבות ההדבקה נבחנו בלוטות העטין בשתי הפרות לאחר עשרים וארבע שעות, 4, 6, 8, 12 ו-13 ימים. עקב אי-הפרשת חידיקים ברבעים המודבקים (פירוט בהמשך) הודבקו אותם רבעים שנית במספר חידיקים גבוה יותר מ-6000 חידיק והבדיקות נעשו אחרי 24 שעות, 3 ו-5 ימים לאחר ההדבקה השנייה. ההדבקה השנייה באה לבדוק, האם ניתן ברמות חידיקים גבוהות ביותר להדביק פרות עם התייחסות לכך, כי לפחות בהדבקה הראשונה נחשבו פרות אלה לנקיות מחידיקי סטפ' אוראוס.

מבחן California mastitis test (CMT) בוצע ע"פ שיטתם של Schneider & Jasper (1964). יוני K ו- Na flame photometer באמצעות Na ו- Cl (Ciba Corning,  $\pm 0.5\%$ ) Buchler Instruments,  $\pm 0.5\%$  Chloride-O-Meter (Kansas, Missouri, USA).

מערכת החיסון בחלב (ספירה מבדלת לרת"ס) נבדקה על ידי סימון התאים השונים בנוגדנים חד-שבטיים ואנליזה על ידי מכשיר Flow Cytometry (FACS). תאי מערכת החיסון שהוגדרו היו: נויטרופיליים, מקרופאגים, לימפוציטים מסוג B ו- T נושאי קולטנים  $CD4^+$  או  $CD8^+$ . דרך דיגום, (הנוגדנים החד-שבטיים והשימוש במכשיר FACS לזיהוי התאים הלבנים בחלב מסוכם במאמר שנשלח לפרסום ב- J. Dairy Sci. (Leitner et al)).

פעולות המערכת החיסונית בעטין במצב של דלקת נבחנו באמצעות פעולת הבליעה *in vivo* של חידיקי סטפ' אוראוס על ידי התאים הבלענים: נויטרופילים ומקרופאגים בעטין הפרה ברבע המזוהם בהשוואה לרבע נקי. וחלב מרבעים נקיים מזוהם בחידיקי סטפ' אוראוס לאחר הדבקה, התאים הופרדו ומשקע התאים הוכן עבור קריאה במיקרוסקופ אלקטרוני חודר. במקביל נבחן כושר הבליעה של אותם התאים במבחנה (שיטת המבחן *in vitro* מפורט במאמר שנשלח לפרסום ב- J. Dairy Sci. (Shoshani et al)).

## בדיקות קליניות

חום, קצב הנשימה, עצמת הדלקת בעטין (סולם ערכים 7–35) (Anderson et al., 1986), פעילות הכרס, התנהגות כללית של הפרה, ומדדים חיסוניים: ספירה כללית ומבדלת, ומדדים כימיים: קלציום, סודיום, זרחן, אוריאה קריטינין וחלבון כללי בדם – נבחנו לפי המפורט במהלך הניסויים.

## מהלך הניסויים

### ניסוי 1

ארבע מבכירות מגזע הולשטיין ישראלי באמצע התחלובה הובאו מרפת מסחרית

**ניסוי 3**

של נפיחות, חום, כאב ואודם) וכן לא נמדדו כל שינויים בכל המדדים הקליניים. בשבעת הרבעים המודבקים עלה מדד ה-CMT בתוך 17 שעות מזמן ההדבקה ונשאר גבוה (>3) במשך כל הניסוי כולו. הרת"ס במקביל עלה לרמות של מיליוני תאים. ממוצע של  $9.7 \pm 45$  ל- $13.3 \pm 6$  ב-24 השעות הראשונות לאחר ההדבקה, ונשאר ברמה זאת עם עליות וירידות במשך הניסוי כולו. העליה ברת"ס נבעה בעיקרה מעליה בניוטרופילים (טבלה 1). עלית נייטרופילים ברבעים אלה היתה פי 13, מרמה ממוצעת של  $8.5 \pm 5$  לרמה של  $12 \pm 1$ . ברבעים אלה למרות שלא חלו שינויים משמעותיים באחוזי הלימפוציטים חלה עליה במספרם. העליה חלה בעיקר בלימפוציטים מסוג T הנושאים סמן CD8+ תאי הרג.

**ניסוי 2**

לאורך כל הניסוי בבדיקות הבקטריוולוגיות של הרבעים המודבקים לא אובחנו חידקי סטפ' אוראוס. בשתי הדבקות חלה עליה במדד ה-CMT לרמות של 3–4 ב-24 השעות הראשונות לאחר ההדבקה וירידה לרמות של 0–2, 4–8 ימים לאחר מכן. במקביל חלה עליה ברת"ס שאופינה בעיקר בניוטרופילים; עליה זאת נמשכה מספר ימים וחזרה למצב ההתחלתי כעבור 4–9 ימים לאחר ההדבקות.

**ניסוי 3**

ארבעה עשר מתוך ששה רבעים שהודבקו נמצאו חיוביים להדבקה כפי שבא לידי ביטוי בבדיקות הבקטריוולוגיות לאורך כל הניסוי. רוב הרבעים המודבקים (10/16) נמצאו חיוביים בבדיקה הראשונה שלאחר ההדבקה וכל ה-14 בהמשך. ברבעי הביקורת הלא-מודבקים לא חל כל שינוי לאורך הניסוי כולו. הפרות לא פיתחו דלקת קלינית ברבעים המודבקים ולא הראו כל שינוי במדדים הקליניים, חלה עליה ברת"ס שנשאר גבוה עם עליות וירידות לאורך הניסוי כולו. העליה נבעה בעיקרה מעליה בניוטרופילים מ- $10 \pm 2$  ל-

שמונה מבכירות באמצע התחלובה הראשונה הובאו מרפתות מסחריות לרפת במכון וולקני. בלוטות העטין בזמן הבאתן נמצאו ללא זיהום חידקי או עם חידקים הנחשבים כבלתי פתוגניים לעטין ורת"ס נמוך (עד  $90 \times 1000$ ). קביעת נוכחות או אי-נוכחות חידק בעטין והרת"ס בוצעה באותה הדרך המפורטת בניסוי ההדבקה בוצעה לאחר חליבת בוקר ב-2 רבעים בכל פרה באותו האופן כמפורט בניסוי 1, עם 1500 חידקי סטפ' אוראוס מורחפים ב-1 מ"ל תמיסת מלח. לאחר ההדבקה חזרו הפרות למשטר חליבה רגיל. עשרים וארבע שעות, ששה ושלושה עשר ימים לאחר ההדבקה נבחן חלב מכל רבע בנפרד לנוכחות חידקית, שינויים פיסולוגיים וחיסוניים, רת"ס והתפלגותו. כמו כן נבחנו שינויים בקולטנים על פני תאי מערכת החיסון ופעילות בלענית של נייטרופילים ומקרופאגים.

**מבחנים סטטיסטיים**

הנתונים נותחו באמצעות SAS, general linear procedure model (GLM). הגורמים הבלתי תלויים היו: פרה, יום הדיגום, רבע מדבק או ביקורת והשפעות הגומלין ביניהם. הגורמים התלויים היו: רת"ס (ערך לוגריתמי Ln), CMT, מספר מוחלט והתפלגות באחוזים של תאי מערכת החיסון, מספר חידקים בחלב, כושר הבליעה במבחנה, הרכב החלב, שלושת היונים שנבחנו, וכל מדד קליני.

**תוצאות****ניסוי 1**

שבעה מתוך שמונת הרבעים שהודבקו נמצאו חיוביים להדבקה כפי שבא לידי ביטוי בבדיקות הבקטריוולוגיות לאורך כל הניסוי. בכל הרבעים האלה נמצא החידק בחלב 24 שעות לאחר ההדבקה ובכל הבדיקות העוקבות. ברבעי הביקורת לא חל כל שינוי לאורך הניסוי כולו. ברבעים אלה לא הופרשו חידקים, לא חל כל שינוי ברת"ס ובהתפלגות התאים החיסוניים. הפרות לא פיתחו דלקת קלינית (לפי הגדרה

טבלה 1. ממוצע  $\pm$  שגיאת התקן (לוג טבעי) והתפלגות (%) של תאי מערכת החיסון בחלב. נויטרופילים ולימפוציטים מסוג T (CD8<sup>+</sup>), נקבעו ע"י סימון בנוגדנים חד-שבטיים, וקריאה במכשיר FACS-CAN ולימפוציטים כלליים, תאי בליעה (מקרופגרים), אאוניופילים, ותאי אפיתל נקבעו על ידי מיקרוסקופ אופטי לפני ולאחר 50 ימים הדבקה של סטפ' אוראוס VLVL-8407 בניסוי 1.

		ביקורת, לא מודבקים		מודבקים	
		לפני זמן	אחרי	לפני	אחרי
נויטרופילים	מספר	8.7 $\pm$ 0.5	8.7 $\pm$ 0.2	8.5 $\pm$ 0.5	12 $\pm$ 0.1
	%	33 $\pm$ 7	24 $\pm$ 2	34 $\pm$ 8	50 $\pm$ 3
לימפוציטים	מספר	8.1 $\pm$ 0.2	8.1 $\pm$ 0.1	7.1 $\pm$ 0.5	10 $\pm$ 0.1
	%	14 $\pm$ 2	12 $\pm$ 1	13 $\pm$ 2	6 $\pm$ 1
לימפוציטים CD8 <sup>+</sup>	מספר	7.0 $\pm$ 0.5	7.7 $\pm$ 0.1	6.7 $\pm$ 0.3	9 $\pm$ 0.1
	%	5 $\pm$ 1	10 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1	3 $\pm$ 1
מקרופגרים	מספר	7.8 $\pm$ 0.3	7.5 $\pm$ 0.3	7.5 $\pm$ 0.3	10 $\pm$ 0.2
	%	7 $\pm$ 1	4 $\pm$ 1	8 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1
אאוניופילים	מספר	7.0 $\pm$ 0.2	7.7 $\pm$ 0.2	6.8 $\pm$ 0.2	9 $\pm$ 0.2
	%	2 $\pm$ 1	10 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1	1 $\pm$ 1
תאי אפיתל	מספר	9.0 $\pm$ 0.1	9.6 $\pm$ 0.1	9.1 $\pm$ 0.1	11 $\pm$ 0.1
	%	35 $\pm$ 4	58 $\pm$ 4	41 $\pm$ 5	30 $\pm$ 2

טבלה 2. ממוצע  $\pm$  שגיאת התקן (לוג טבעי) והתפלגות (%) של תאי מערכת החיסון בחלב: נויטרופילים ולימפוציטים כלליים, לימפוציטים מסוג T (CD8<sup>+</sup>), ותאי בליעה (מקרופגרים), נקבעו ע"י סימון בנוגדנים חד-שבטיים וקריאה במכשיר FACS-CAN לפני ולאחר 14 ימים הדבקה של סטפ' אוראוס VLVL-8407 בניסוי 2.

		ביקורת, לא מודבקים		מודבקים	
		לפני זמן	אחרי	לפני	אחרי
נויטרופילים	מספר	9.9 $\pm$ 0.2	10 $\pm$ 0.2	10 $\pm$ 0.2	13 $\pm$ 0.3
	%	69 $\pm$ 5.8	72 $\pm$ 2.1	60 $\pm$ 2.0	72 $\pm$ 2.0
לימפוציטים	מספר	7.6 $\pm$ 0.2	8.3 $\pm$ 0.2	8.8 $\pm$ 0.1	11 $\pm$ 0.3
	%	6.3 $\pm$ 0.9	8.2 $\pm$ 1.6	13 $\pm$ 0.7	7 $\pm$ 0.9
לימפוציטים CD8 <sup>+</sup>	מספר	5.7 $\pm$ 0.2	7.6 $\pm$ 0.2	8.2 $\pm$ 0.2	9.6 $\pm$ 0.3
	%	1 $\pm$ 0.0	4 $\pm$ 0.7	7 $\pm$ 0.8	3 $\pm$ 0.5
מקרופגרים	מספר	8.4 $\pm$ 0.4	8.8 $\pm$ 0.3	9.2 $\pm$ 0.2	11 $\pm$ 0.3
	%	14 $\pm$ 2.6	12 $\pm$ 1.7	19 $\pm$ 1.1	14 $\pm$ 1.0

מודבקים בסטפ' אוראוס בשלבים הראשונים לאחר ההדבקה הכילו גם הם מיצלות של שומן, אך במבחן מבחנה לא בלעו חידקי סטפ' אוראוס. תאים מרבעי עטין מפרות במצב כרוני של המחלה לא הכילו חידקים בזמן בידודם מהחלב, אך כן ביצעו תהליך של בליעה במבחנה.

13 $\pm$ 3.2 (טבלה 2). הפעילות הבלענית של הנויטרופילים והמקרופגרים בחלב נבחנה הן בתוך העטין והן במבחנה מחוץ לעטין. נויטרופילים ומקרופגרים מחלב פרות ללא ממצא חידקי הכילו מיצלות של שומן אך לא חידקים; במבחן המבחנה תאים אלה היו בעלי כושר בליעה של חידקים. לעומתם, תאים שנאספו מרבעים

## דין

בלבד. מהתוצאות עולה, כי העליה ברת"ס היתה איטית ונמוכה יחסית לזאת המתקבלת בהדבקה בחידיקי א' קולי (שפיגל). עיקר העליה נבעה מחדירה של ניוטרופילים מזרם הדם לתאים אשר תפקידם בפעולות הבליעה והרג החידיקים בחלב, פעילות המתבצעת ביעילות מירבית במערכות התוך-גופיות: דם, אברים שונים ובעיקר בנוכחות נוגדנים ייחודיים כנגד הגורם הזר. פעילות זאת מוקטנת בחלב בעיקר כתוצאה מהסביבה העויינת יחסית לתאים (pH, מרכיבים שונים, חלבונים וכו').

בניסויים אלה נמצא, כי הקטנת הפעילות בחלב מרבעים ללא ממצאים חידיקיים (בניסוי המבחנה) נובעת מפעילות התאים בתוך החלב כלפי מיצלות השומן אשר להן עדיפות בבליעה, פעילות הנובעת כנראה מגודל ואולי נוכחות נוגדנים יחידים המגבירים את הפעילות. לעומת פעילות זאת נמצא, כי למרות כושר הבליעה של הנוטרופילים והמקרופאגים מיצלות השומן בחלב בשלב האקוטי (מיד לאחר ההדבקה) אין בליעה של חידיקים במבחן המבחנה. יתרה מזאת, ניוטרופילים ומקרופאגים בחלב מרבעים המוגדרים כמודבקים על ידי סטפ' אוראוס במצב התת-קליני כרוני לא ביצעו פעולות בליעה של חידיקים בתוך החלב בעטין, למרות הימצאות חידיקים, אך כן ביצעו פעולות בליעה של חידיקים כפי שבאה לידי ביטוי במבחן המבחנה. האטת פעילות הבליעה של חידיקים על ידי ניוטרופילים בחלב יכולה להיות מוסברת על ידי מיעוט נוגדנים יחידים כנגד המרכיבים האימונווגניים של החידיק בעיקר בשלב האקוטי של המחלה. יחד עם זאת, העובדה שבמצב הכרוני לתאים עדיפות בליעה כלפי מיצלות השומן ולא כלפי החידיקים, למרות הסיכוי לנוכחות נוגדנים יחידים, מסבירה אולי את מצב שווי המשקל הכרוני.

לאור עובדות אלה, השלב החשוב מבחינת הפרה להישאר נקיה מזיהום בסטפ' אוראוס הוא שלב החשיפה. אין ידע מדויק, מה מספר הפרות/רבעים הנחשפים לסטפ' אוראוס במשך החליבה וכמה מהן "מצליחות" לא להידבק,

התגובות הפיסיוולוגיות והחיסוניות המתרחשות בעקבות חדירת החידיק לעטין מורכבות ותלויות בגורמים רבים ובמקרים רבים נגמר התהליך ביצירת שווי משקל בין החידיק והפרה, שווי משקל בו החידיק מתבסס ברבע הנגוע וגורם לירידה בכמות החלב ועליה ברת"ס כתוצאה מפגיעה ברקמה היוצרת. יחד עם זאת, הפגיעה בפרה הן מבחינה כללית (יכולת ההמלטה) והן ברמה המקומית (המשך ייצור החלב) אינם נפגעים בצורה משמעותית. שווי משקל חדש זה נוצר כתוצאה מיכולתו של סטפ' אוראוס לשרוד בעטין מבלי לגרום לנזק משמעותי לפרה. מצב זה המכונה דלקת תת-קלינית או כרונית מאופיין בהפרשת החידיק בחלב וכן על ידי עליה ברת"ס, בעיקר ניוטרופילים ובשלב מאוחר יותר תאי T הנושאים את הקולטן  $CD8^+$ . העליה ברת"ס שעיקרה עליה בניוטרופילים מצביעה על שינוי במעבר שבין הדם ורקמת העטין. שינוי שבעקבותיו עוברים תאים מהדם ביתר קלות לעטין. עליה בתאי T הנושאים סימן  $CD8^+$  בשלב מאוחר יותר לאחר ההדבקה מצביעה על הימצאות חידיקים תוך-תאיים. עיקר פעילות תאים אלה בהריגת תאים של הפרט עצמו המכילים גורם זר.

על פי תוצאת ניסויים 1 ו-3, החידיק שבודדנו הוא אלים. ההדבקה גרמה להתפתחות זיהום כרוני של הפרה/בלוטת העטין ושינויים בהרכב החלב הדומים לאלה שהתקבלו על ידי חוקרים אחרים (Schukken 1994, Paape 1991, Nickerson 1989).

בניסוי 2 לא הצלחנו להדביק את בלוטת העטין בחידיק כפי שבא לידי ביטוי באי-הפרשת החידיק בחלב. תוצאות אלה דומות למחקרו של Schukken (1994) בהם נמצא כי אצל פרות עם רת"ס של  $300 \times 1000$  סיכויי ההדבקה קטנים. העובדה כי בכל פרות הניסוי לא התקבלה תגובה קלינית כולל תגובה מקומית המוגדרת כסימני דלקת (חום, אודם, כאב והתנפחות) ובו-זמנית שווי במרכיבי החלב ובמספר התאים בחלב, מצביעה על תגובה מקומית ברבע הנגוע

**סיכום**

סידרת ניסויים זאת היא המעט שניתן היה לבצע בפרק זמן של שנתיים אלה. המשך העבודה להבנת הקשר שבין סטפ' אוראוס וחידקים אחרים, בעיקר אלה הגורמים למצבים כרוניים, ובניית מודלי הדבקה הקרובים יותר לאלה המתקיימים בטבע, יעזרו למציאת אמצעים אשר יקטינו את הסיכוי של מעבר מהדבקה לזיהום כרוני. עבודה זאת נעשתה במימון הנהלת ענף הבקר.

**ספרות**

מטעמים טכניים לא מובאת כאן רשימת הספרות המקיפה והענפה, 17 איזכורים. הקורא המתעניין יוכל לקבלה אצל המחברים.

**הסדר**

משמע לסלק את החידק בשלבים הראשונים לאחר החדירה. בניסוי זה החידק הוחדר לתוך הפטמה מעבר לתעלת מבוא הפטמה ואחוז ההצלחה בהדבקת הרבעים, כאשר הרת"ס היה נמוך (90x1000) היה 85%. מתוצאות הבחינה של מרכיבי המערכת החיסונית בשלב זה עולה, כי התגובה הכללית של שליחת תאים נוספים, בעיקר ניוטרופילים, מזרם הדם לאזור הנגוע איטית ויעילות פעילות התאים נמוכה כנראה בעקבות שינוי בקולטנים על ממברנות התאים. בשלב זה לא ברור, מה תפקידם בפעולות ההכרה והבליעה של סטפ' אוראוס. שינוי במספר הקולטנים יכול לגבוע מקישור של אנטיגנים אליהם, משינוי המבנה המרחבי ו/או מהכנסה או הפסקת יצירת החלבונים.

אנו מאמינים שנה 82/83  
זכר את אוגינו

**מספקת מגוון מזון גס  
לבקר וצאן שנבחר  
בהקפדה, באמינות ובמקצועיות**

**מפעל אזורי משקי הגליל העליון, הגליל העליון 10200  
טל: 6943956, 06-6943960 פקס: 06-6943958**