

Komórki somatyczne mleka koziego

Emilia Bagnicka¹, Justyna Jarczak¹, Jarosław Kaba²

¹*Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt Polskiej Akademii Nauk w Jastrzębcu,
ul. Postępu 36A, 05-552 Magdalena*

²*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa*

Wstęp

Zgodnie z definicją, podaną w najstarszej i najbardziej prestiżowej angielskojęzycznej encyklopedii – Encyklopedia Britannica – „*soma*” to wszystkie komórki organizmów żywych, zarówno roślinnych jak i zwierzęcych, z wyjątkiem komórek płciowych. Podziału na komórki somatyczne oraz płciowe dokonał niemiecki XIX-wieczny biolog i genetyk August Weismann (1834–1914, główny przedstawiciel neodarwinizmu, zwanego dzisiaj weismanizmem oraz jeden z twórców genetyki i prekursorów teorii DNA), formułując swą teorię „plazmy zarodkowej” jako substancji dziedzicznej (<http://www.britannica.com/search?query=soma>). Słowo to pochodzi od greckiego: „*soma*”, oznaczającego „ciało”. W złożeniach, jako ostatni człon wyrazów wskazuje na związek z komórką roślinną lub zwierzęcą, np. chromosom, liposom, somatotropina, czy wreszcie komórki somatyczne mleka. Te ostatnie to przede wszystkim składniki morfotyczne obecne w mleku, które migrują z krwi do mleka (leukocyty = białe ciała krwi) oraz złuszczone komórki tkanki wydzielniczej (Bagnicka i in., 2011).

Celem opracowania było omówienie struktury komórek somatycznych w mleku kozim oraz zdefiniowanie przyczyn występowania ich podwyższonej liczby.

Leukocyty w mleku

Budowa wymienia (gruczoł sutkowy, ang. *mammary gland*) kóz została dokładnie

omówiona w podręczniku *Hodowla, chów i użytkowanie kóz* pod redakcją Wójtowskiego (2013). Wymię kozy składa się z dwóch niezależnych gruczołów, z odrębną tkanką gruczołową i ukrwieniem. Gruczoły te są bardzo ukrwione. Wyprodukowanie 1 litra mleka wymaga przepływu 400–500 l krwi przez wymię.

Leukocyty krwi (m.in. neutrofile, makrofagi, limfocyty, eozynofile) z naczyń włosowatych przeciskają się pomiędzy komórkami wydzielniczymi nabłonka wydzielniczego do światła pęcherzyków mlecznych. Jest to spowodowane tym, że gruczoł sutkowy produkuje czynniki chemotaktyczne (czynniki chemiczne oddziałujące na cały organizm bądź na komórki zdolne do samodzielnego ruchu, takie jak leukocyty) dla neutrofilii, makrofagów i limfocytów, co przyczynia się do zwiększenia ich migracji do mleka. Migracja leukocytów do mleka jest szczególnie nasiloną pod koniec laktacji jako ochrona gruczołu przed patogenami w trakcie zasuszenia.

Czynniki chemotaktyczne są więc fizjologicznym regulatorem homeostazy wymienia (homeostaza – podstawowe pojęcie fizjologii, właściwość systemu, w którym zmienne parametry są tak regulowane, aby utrzymać stabilne warunki wewnętrzne) (Manlongat i in., 1998). Ponadto, produkowane przez bakterie patogenne toksyny, w przypadku klinicznych i podklinicznych stanów zapalnych wymienia, pobudzają leukocyty i komórki nabłonka do wydzielania tzw. cytokin prozapalnych, które również służą jako czynniki chemotaktyczne dla leukocytów, powodując ich nasiloną migrację, zwłaszcza neutrofilii, z krwi do mleka.

Ziarnistości granulocytów obojętnochłonnych, czyli neutrofilii zawierają peroksydazę, kwasną i zasadową fosfatazę oraz peptydy przeciwdrobnoustrojowe, które uczestniczą w zabijaniu bakterii. Główną funkcją tych komórek żernych jest kontrolowanie całego organizmu i poszukiwanie patogennych drobnoustrojów, a więc są one zasadniczymi komórkami ostrego zapalenia. Kolejne leukocyty – monocyty to prekursorzy makrofagów, głównych komórek żernych tkanekowych. Obecne są również w mleku. Fagocytoza jest głównym mechanizmem usuwania drobnoustrojów z organizmu i jest ważna szczególnie w obronie przeciwko bakteriom zewnątrzkomórkowym, a więc również bakteriom obecnym w mleku. Limfocyty stanowią element odporności nabytej. Włączają się do walki, gdy pierwsza linia obrony (komórki fagocytarne) rozpocznie działalność, lecz jej skuteczność okaże się niewystarczająca. Komórki uczestniczące we wrodzonej i nabytej odporności współpracują ze sobą. Eozynofile wykazują natomiast bardzo słabą aktywność fagocytarną i są odpowiedzialne głównie za zewnątrzkomórkowe zabijanie dużych pasożytów (Lydyard i in., 2006).

Liczba komórek somatycznych w mleku kozim

Mleko pochodzące od zdrowych kóz może zawierać nawet do kilku milionów elementów komórkowych w 1 mililitrze (Paape, 2000), gdyż na liczbę komórek somatycznych (LKS) w mleku kozim wpływa wiele czynników, m.in. wiek kóz, stadium laktacji (pokrywające się najczęściej z porą roku), ruja, wielkość stada, rodzaj doju, budowa wymienia i strzyków, zarażenie wirusem zapalenia stawów i mózgu kóz (CAEV) (Danków i in., 2003; Contreras i in., 1999; McDougall i Voermans, 2003; Olechnowicz i Jaśkowski, 2004; Wilson i in., 1995). Zatem, podwyższona LKS w mleku kozim aż w 90% może być uwarunkowana działaniem czynników niezakaźnych. Jak już wspomniano, zjawisko to występuje zwłaszcza w końcowym stadium laktacji (Haenlein i Hinckley, 1995). Rota i in. (1993) podają, że LKS w mleku kóz wolnych od stanów zapalnych na początku laktacji wynosiła ponad $900 \times 10^3/\text{ml}$, w środkowym stadium około $600 \times 10^3/\text{ml}$, nato-

miast w końcowym stadium laktacji może wynosić prawie $2000 \times 10^3/\text{ml}$.

Wniknięcie czynników chorobotwórczych do wymienia najczęściej powoduje wzrost liczby komórek somatycznych, gdyż często następuje rozwój procesu zapalnego. Głównym czynnikiem etiologicznym są bakterie. Haenlein (2002) szacuje wartość współczynnika korelacji między LKS a liczbą bakterii w mleku na poziomie 0,44. W dużej mierze w zakażonym wymieniu LKS zależy od rodzaju bakterii, które można zaliczyć do dwóch głównych grup – zakaźnych i środowiskowych. Bakterie zakaźne bytują na skórze wymienia, nie są przystosowane do życia poza organizmem gospodarza, namnażają się po wniknięciu do wymienia, po pokonaniu mechanicznej bariery, jaką jest strzyk, powodując najczęściej podkliniczne i przewlekłe, trudne do wyleczenia stany zapalne. Do tej grupy należy gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*), który może spowodować gangrenowaciejące zapalenie wymienia, kończące się śmiercią zwierzęcia, a w przypadku jego przeżycia – obumarciem zaatakowanej płołki wymienia (Kaba i in., 2009). Bakterie środowiskowe, zwane też oportunistycznymi (gronkowce koagulazo-ujemne i *Escherichia coli*) bytują w środowisku zwierzęcia, są mniej zjadliwe i zazwyczaj szybko zwalczane przez układ odpornościowy kóz, ale w przypadku osłabienia odporności zwierząt również może rozwinąć się stan zapalny (Blowey i Edmondson, 1995; Bradley, 2002).

W mleku obecne są również złuszczone komórki nabłonka wydzielniczego. Jedyne 30% tych komórek to komórki apoptotyczne, martwe. Te złuszczone, ale żywe komórki nabłonkowe spełniają również istotną rolę w ochronie i obronie wymienia przed czynnikami chorobotwórczymi. Wydzielają one liczne białka i peptydy przeciwbakteryjne. Ponadto, produkują immunoglobulinę IgA, a więc odpowiadają za przekazywanie pasywnej odporności oseskom (Le Jan, 1996).

Tłuszcz mleka wszystkich ssaków jest wydzielany w sposób tzw. apokrynowy, czyli lipidowe krople są uwalniane do światła wymienia otoczone fragmentem błony komórkowej szczytowej części komórki mlekotwórczej. O ile u krów kropla tłuszczu jest szczelnie otoczona membraną, to przy uwalnianiu kropli tłuszczu

mleka koziego, poza uszczknięciem błony komórkowej najczęściej następuje również odebranie kawałka cytoplazmy. Powstają tzw. półksiężycy cytoplazmy (ang. *crescents* lub *signets*). Często znajdują się tam również fragmenty organelli komórkowych z wyjątkiem jąder (Neveu i in., 2002).

Struktura komórek somatycznych mleka koziego

W mleku kozim, pochodzącym ze zdrowego wymienia, złuszczone komórki tkanki wydzielniczej stanowią znacznie ponad połowę ogólnej LKS, nawet do 70%. Pozostałe to przede wszystkim neutrofile, stanowiące około 15% ogólnej liczby komórek, następnie monocyty (ok. 10%) oraz eozynofile i limfocyty (odpowiednio ok. 3% i 2%). Zatem, żywe komórki złuszczonego nabłonka wraz z neutrofilami i monocytami stanowią główny arsenał obrony wymienia natychmiast po wtargnięciu patogenów. Jak wspomniano, obecność bakterii w mleku i wydzielane przez nie toksyny powodują nagły napływ leukocytów z krwi do mleka, zatem zmianom liczby komórek somatycznych towarzyszą jednocześnie zmiany w ich strukturze. Wzrasta udział leukocytów w ogólnej liczbie komórek do ponad 50%, zwłaszcza w zakażeniach bakteriami z głównej grupy patogenów (*S. aureus*). Jest to efekt zwiększonej migracji przede wszystkim neutrofile. Ich udział w ogólnej LKS wzrasta do ponad 30%, a więc neutrofile stanowią ponad 60% wszystkich leukocytów obecnych w zakażonym wymieniu (Bagnicka i in., 2011).

Skutki zakażenia bakteriami patogennymi

Po pokonaniu fizycznej bariery ujścia kanału strzykowego, otoczonego mięśniami gładkimi i całego kanału strzykowego, wyścielonego keratyną miękką (grupa białek, wytwarzanych przez keratynocyty, nierozpuszczalnych w wodzie, niezwykle odpornych na działanie enzymów proteolitycznych o właściwościach przeciwbakteryjnych, a więc będących barierą biologiczną) (Sordillo i in., 2002; Miller i in.,

1988), bakterie napotykaają kolejną linię obrony, którą stanowią granulocyty, makrofagi i limfocyty. W przypadku nieskutecznej obrony organizmu następuje rozwój stanu zapalnego. Bakterie powodują uszkodzenia komórek tkanki wydzielniczej; może dochodzić nawet do zniszczenia całych pęcherzyków mlekotwórczych oraz kanalików pęcherzykowych. Zniszczone komórki łączą się z leukocytami, co doprowadza do niedrożności przewodów mlecznych. W rezultacie zakażenie bakteryjne powoduje zmniejszenie produkcji mleka (Petersson-Wolfe i in., 2010). Kondracki i Bednarek (1995) podają, że zapalenia gruczołu mlekowego stanowią w około 20% przyczynę chorób i upadków kóz, wpływając więc w znaczący sposób na wynik ekonomiczny produkcji mleka koziego. Zarówno stany kliniczne, jak i podkliniczne zapalenia wymienia wiążą się ze zwiększonymi kosztami opieki weterynaryjnej oraz z obniżeniem wydajności i pogorszeniem jakości mleka oraz zmniejszeniem wydajności serów (Galina i in., 1996; Haenlein, 2002). W Polsce problem ten występuje w ponad 62% stad (Kaba – informacja ustna).

Kliniczne przypadki zapalenia wymienia u kóz notowane są rzadko – jedynie u 1% zwierząt (Boutinaud i Jammes, 2002). Jednak, jak podają Leitner i in. (2004, 2008), podkliniczne stany zapalne mogą dotyczyć nawet do 70% połówek wymienia kóz w stadzie.

Norma amerykańska wymaga, aby mleko kozie nie zawierało więcej niż 1 mln komórek somatycznych w 1 ml mleka, jednak połowa hodowców nie jest w stanie spełnić tych norm (Paape, 2000). W Unii Europejskiej brak jest norm, dotyczących LKS w mleku kozim. Według zaleceń europejskich naukowców, w świeżym mleku kozim liczba komórek somatycznych nie powinna przekraczać 1,5 mln/ml.

W stadzie, objętym ścisłą kontrolą, w tym mikrobiologiczną (comiesięczna kontrola LKS w mleku, wykonywanie testów mikrobiologicznych w przypadku podwyższonej ich liczby, natychmiastowe leczenie i eliminacja kóz ze stwierdzoną obecnością *S. aureus*), liczba komórek somatycznych w mleku zbiorczym, nawet w końcowym stadium laktacji nie przekracza 600×10^3 /ml mleka (Bagnicka – dane niepublikowane). W stadzie komercyjnym jest to jednak trudne do osiągnięcia.

Profilaktyka

Najsukuteczniejszą walką ze stanami zapalnymi w wymieniu, jak przy każdej jednostce chorobowej, jest profilaktyka. Pośredni, ale bardzo duży wpływ na potencjalną odporność wymienia na stany zapalne ma budowa wymienia i strzyków, jego odpowiednie zawieszenie i odpowiednia odległość strzyków od podłoża. Dlatego też, programy hodowlane wielu krajów uwzględniają budowę wymienia w indeksach selekcyjnych (Wójtowski i in., 2013). Kolejnym ważnym elementem profilaktyki jest utrzymywanie urządzeń udojowych w pełnej sprawności i czystości oraz prawidłowy i higieniczny dój, przy zastosowaniu odpowiednich parametrów, zwłaszcza podciśnienia oraz stosowanie dippingu (kąpiel poudojowa strzyków, zanurzenie strzyków w specjalnym preparacie), czyli naniesienie bezpośrednio po doju preparatu, zawierającego substancje hamujące rozwój patogenów, nie tylko bakteryjnych, ale również wirusowych, grzybiczych, czy pierwotniaków. Preparaty zawierają na ogół również substancje, które pielęgnują skórę strzyka, nawilżają ją i pobudzają regenerację naskórka. Poza tym, ich gęsta konsystencja powoduje tworzenie się filtra na ujściu kanału strzykowego, które po doju pozostaje przez pewien czas otwarte, ułatwiając wnikanie drobnoustrojów chorobotwórczych. W chowie i hodowli krów mlecznych stosowanie tych preparatów jest szeroko rozpowszechnione.

Niezwykle istotnym aspektem w profilaktyce – nie tylko stanów zapalnych wymienia – jest właściwe żywienie, które bezpośrednio wpływa na układ odpornościowy. Możliwość

namnażania się w gruczole mlekowym drobnoustrojów zależy nie tylko od stopnia inwazji, ale również od zdolności układu immunologicznego zwierzęcia do ich zwalczania. Niewłaściwe żywienie może powodować upośledzenie systemu odpornościowego zwierzęcia, przez co staje się ono podatne na zakażenia, również gruczolu sutkowego. Niektóre składniki mineralne i witaminy mają bezpośredni wpływ na funkcjonowanie układu odpornościowego, więc mogą one mieć również znaczenie w profilaktyce zapalenia wymienia. Dotyczy to składników, będących częścią systemu antyoksydacyjnego komórki. Selen (Se), jako składnik enzymu peroksydazy glutationowej bierze udział w „niszczeniu” wolnych rodników, a wraz z witaminą E zwiększa zdolność neutrofilów do „zabijania” patogenów. Beta-karoten sprzyja namnażaniu limfocytów, co może zwiększać zdolności immunologiczne gruczolu mlekowego, natomiast cynk (Zn) odpowiada za „rekonstrukcję” keratyny, a więc wpływa na regenerację łatwo złuszczonego się nabłonka przewodu strzykowego i aktywuje wiele enzymów, niezbędnych dla funkcjonowania systemu immunologicznego. Zatem, suplementowanie diety kóz mieszanką mineralno-witaminową jest konieczne w przypadku utrzymywania wysoko wydajnych kóz. Ponadto, prawidłowo zbilansowana pod względem zawartości białka i energii dawka, dostosowana do poziomu wydajności zwierzęcia, dostarczanie odpowiedniej ilości włókna strukturalnego, np. w postaci siana oraz unikanie nagłych zmian składu dawki żywieniowej to podstawa profilaktyki wielu schorzeń zwierząt o użytkowości mlecznej.

Literatura

Bagnicka E., Winnicka A., Józwiak A., Rzewuska M., Strzałkowska N., Kościuczek E., Prusak B., Kaba J., Horbańczuk J., Krzyżewski J. (2011). Relationship between somatic cell count and bacterial pathogens in goat milk. *Small Rumin. Res.*, 100: 72–77.

Blowey R., Edmondson R.W. (1995). Mastitis control in dairy herds. Farming Press, 29 pp.

Boutinaud M., Jammes H. (2002). Potential uses of milk epithelial cells: a review. *Reprod. Nutr. Dev.*, 42: 133–147.

Bradley A. (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet. J.*, 164 (2): 116–128.

Contreras A., Paape M.J., Millert R.H. (1999). Prevalence of subclinical intramammary infection caused by *Staphylococcus epidermidis* in a commercial dairy goat herd. *Small Rumin. Res.*, 31: 203–208.

Danków R., Cais-Sokolińska D., Pikul J., Wójtowski J. (2003). Jakość cytologiczna mleka koziego. *Med. Wet.*, 59: 77–80.

Galina M.A., Morales R., Lopez B., Carmona M.A.

- (1996). Effects of somatic cell count on lactation and soft cheese yield by dairy goats. *Small Rumin. Res.*, 21: 251–257.
- Haenlein G.F.W. (2002). Relationship of somatic cell count in goat milk to mastitis productivity. *Small Rumin. Res.*, 45: 163–178.
- Haenlein G.F.W., Hinckley L. (1995). Goat somatic cell count situation in USA. *Int. J. Anim. Sci.*, 10: 305–310.
- Kaba J., Bagnicka E., Nowicki M., Rzewuska M., Nowicka D., Witkowski L., Sobczak-Filipiak M., Osińska B., Sendecka H., Czopowicz M., Szaluś-Jordanow O. (2009). Zapalenie wymienia u kóz – najczęstsze przyczyny i rozpoznawanie. *Życie Wet.*, 84: 637–643.
- Kondracki M., Bednarek D. (1995). Major diseases occurring in goats. *Med. Wet.*, 51: 75–75.
- Le Jan C. (1996). Cellular components of mammary secretions and neonatal immunity: a review. *Vet. Res.*, 27: 403–417.
- Leitner G., Merin U., Silanikove N. (2004). Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats. *J. Dairy Sci.*, 87: 1719–1726.
- Leitner G., Silanikove N., Merin U. (2008). Estimate of milk and curd yield loss of sheep and goats with intramammary infection and its relation to somatic cell count. *Small Rumin. Res.*, 74: 221–225.
- Lydyard P.M., Whelan A., Fanger M.W. (red.) (2006). *Krótkie wykłady. Immunologia*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- Manlongat N., Yang T.J., Hinckley L.S., Bendel R.B., Krider H.M. (1998). Physiologic-chemoattractant-induced migration of polymorphonuclear leukocytes in milk. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 5: 375–381.
- McDougall S., Voermans M. (2003). Influence of estrus on somatic cell count in dairy goats. *J. Dairy Sci.*, 86: 828–834.
- Miller R.H., Guidry A.J., Paape M.J., Dulin A.M., Fulton L.A. (1988). Relationship between immunoglobulin concentrations in milk and phagocytosis by bovine neutrophils. *Am. J. Vet. Res.*, 49: 42–45.
- Neveu C., Riaublanc A., Miranda G., Chich J-F., Martin P. (2002). Is the apocrine milk secretion process observed in the goat species rooted in the perturbation of the intracellular transport mechanism induced by defective alleles at the *asl-Cn* locus? *Reprod. Nutr. Dev.*, 4: 163–172.
- Olechnowicz J., Jaśkowski J.M. (2004). Komórki somatyczne mleka koziego. *Med. Wet.*, 60: 1263–1266.
- Paape J.M. (2000). Situation regarding the legal limit for somatic cell counts for goats in the United States. *Proc. Conf. Int. sur les Caprins*, 15–18.05.2000, Tours (France), II: 755–756.
- Petersson-Wolfe C.S., Mullarky I.K., Jones G.M. (2010). *Staphylococcus aureus* mastitis: cause, detection and control. Virginia Cooperative Extension, 404: 229.
- Rota A.M., Gonzalo C., Rodriguez P.L., Rojas A.I., Martin L., Tovar J.J. (1993). Effects of stage of lactation and parity on somatic cell counts in milk of Verata goats and algebraic models of their lactation curves. *Small Rumin. Res.*, 12: 211–219.
- Sordillo L.M., Streicher K.L. (2002). Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 7: 135–146.
- Wilson D.J., Stewart K.N., Sears P.M. (1995). Effects of stage of lactation, production, parity and season on somatic cell counts in infected and uninfected dairy goats. *Small Rumin. Res.*, 16: 165–169.
- Wójtowski J. (red.) (2013). *Hodowla, chów i użytkowanie kóz*. Wyd. Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wyd. I, ISBN 978-83-7160-687-8, 426 ss.

SOMATIC CELLS IN GOAT MILK

Summary

The aim of this work was to overview the structure of somatic cells in goat milk and to define the causes of increased number of somatic cells in milk. The milk somatic cells are leucocytes, which migrate from the blood into the milk and sloughed cells of secreting tissue. The main function of these cells is to defend the organism against bacteria including those present in the milk. As with any other disease, prevention is the most effective way to control udder inflammation.