

# Relacje między liczbą komórek somatycznych a patogennymi drobnoustrojami w mleku krów

MAŁGORZATA CZERW, JERZY MOLENDĄ, KATARZYNA KOSEK-PASZKOWSKA,  
JAROSŁAW BYSTRONŃ, ADAM MALICKI, BARBARA SORDYL\*

Zakład Mikrobiologii Żywności i Higieny Przetwórstwa Katedry Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta,  
\*Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej Katedry Anatomii Patologicznej, Mikrobiologii Weterynaryjnej i Weterynarii Sądowej  
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Czerw M., Molenda J., Kosek-Paszowska K., BystronŃ J., Malicki A., Sordyl B.  
**Relation between somatic cell count and pathogenic bacteria in cow's milk**

## Summary

The aim of the study was to evaluate the relation between subclinical forms of mastitis detected on the basis of SCC levels and those based on the results of microbiological examination of milk samples. The study examined 46 cows having no clinical symptoms of mastitis but with a bulk milk somatic cell count (BMSCC) which exceed 400 000/ml. Clinical tests involving the microbiological examination of milk samples and examination of SCC levels as well as clinical examinations of udders were performed each month over a period of nine months. Coagulate-positive staphylococci were shown to be the most frequent cause of high BMSCC. Typical bacteria causing mastitis such as *S. agalactiae* or *S. uberis* were seldom isolated.

The obtained results indicated that there was no direct relationship between isolating pathogenic bacteria from udder and the bulk milk somatic cell count (BMSCC) even if clinical forms of mastitis were noted.

**Keywords:** mammary glands, mastitis, somatic cell

Właściwa jakość mikrobiologiczna i cytologiczna mleka surowego, przeznaczonego do przetwórstwa zapewnia bezpieczeństwo zdrowotne konsumenta i wymagania technologiczne przetwórstwa oraz decyduje o wynikach ekonomicznych hodowców bydła mlecznego. Zgodnie z Dyrektywą Unii Europejskiej 92/46/EEC, od dnia 1 stycznia 1998 r. do przerobu można używać mleka, w którym ogólna liczba drobnoustrojów nie przekracza 100 tys./ml, a liczba komórek somatycznych nie jest większa od 400 tys./ml (5, 8). Według Polskiej Normy obowiązującej od 1 stycznia 1998 r., mleko o takich parametrach zaliczane jest do klasy ekstra (15).

Liczba komórek somatycznych (LKS) w mleku zbiorczym uznawana jest za wskaźnik występowania zakażeń i podklinicznych zapaleń gruczołu mlekowego w stadzie (7, 12, 18). Jeżeli LKS jest mniejsza niż 200 tys./ml, stado uznaje się za wolne od zapaleń wymienia. Wartość LKS w granicach 200-300 tys./ml wskazuje na pojedyncze przypadki *mastitis* w stadzie, natomiast jej wzrost powyżej 300 tys./ml sugeruje potrzebę interwencji lekarsko-weterynaryjnej (1, 2, 4, 16).

Do oznaczania LKS zaleca się stosowanie manualnej metody mikroskopowej, jednak ze względu na jej pracochłonność obecnie wykorzystuje się coraz powszechniej urządzenia automatyczne (Fossomatic, Coulter Counter) (4, 16).

Powodowane przez drobnoustroje zapalenia wymienia są główną przyczyną wzrostu LKS (1, 3, 6, 7, 18). Do najczęściej izolowanych drobnoustrojów z przypadków *mastitis* należą: paciorkowce (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*), gronkowce (*Staphylococcus aureus*), gronkowce koagulazoujemne oraz pałeczki Gram-ujemne (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytocea*, *Pseudomonas aeruginosa*) (3, 7, 11, 18). Oprócz różnych gatunków bakterii do patogenów gruczołu mlekowego zalicza się również drożdżaki i grzyby pleśniowe (9).

Wzrost LKS może być także skutkiem błędów w procesie doju mechanicznego (pustodój, źle dobrane parametry pracy aparatury, brak kontroli procesu udojowego, niesprawne urządzenia). W takich przypadkach proces patologiczny toczący się w gruczole mlekowym określa się mianem podklinicznego, aseptycznego zapalenia wymienia lub zaburzeniem wydzielniczym gruczołu mlekowego (6, 14, 16). Do innych, równie istotnych przyczyn zwiększających LKS w mleku, zalicza się czynniki środowiskowe (błędy w żywieniu i pielęgnacji) oraz jatrogenne (dowymieniowa aplikacja drażniących leków) i stresogenne (6, 13).

Celem badań była ocena zależności między występowaniem zapaleń podklinicznych wymion stwierdzonych na podstawie liczby komórek somatycznych a wy-

nikami badania mikrobiologicznego oraz określenie ewentualnych powiązań między występowaniem drobnoustrojów patogennych a LKS w indywidualnych próbkach mleka krów.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 46 krowach mlecznych pochodzących z jednego gospodarstwa. Krowy te nie wykazywały objawów klinicznych *mastitis*, natomiast w pierwszym badaniu ich mleka wymieniowego stwierdzono LKS wyższą od 400 tys./ml. Przez okres 9 miesięcy zwierzęta te były raz w miesiącu badane klinicznie przez lekarza opiekującego się stadem. Pobierano od nich mleko do badań mikrobiologicznych równoległe z próbkami przesyłanymi do badań laboratoryjnych w ramach kontroli użyteczności wykonywanych przez Z.E.T.O. Olsztyn. Badania mikrobiologiczne przeprowadzono według procedur rozpoznawania drobnoustrojów patogennych dla gruczołu mlekowego krów (15, 17, 18). Ponadto określono wrażliwość wyizolowanych drobnoustrojów na antybiotyki, posługując się metodą krążkową, zgodnie z zaleceniami producenta krążków.

### Wyniki i omówienie

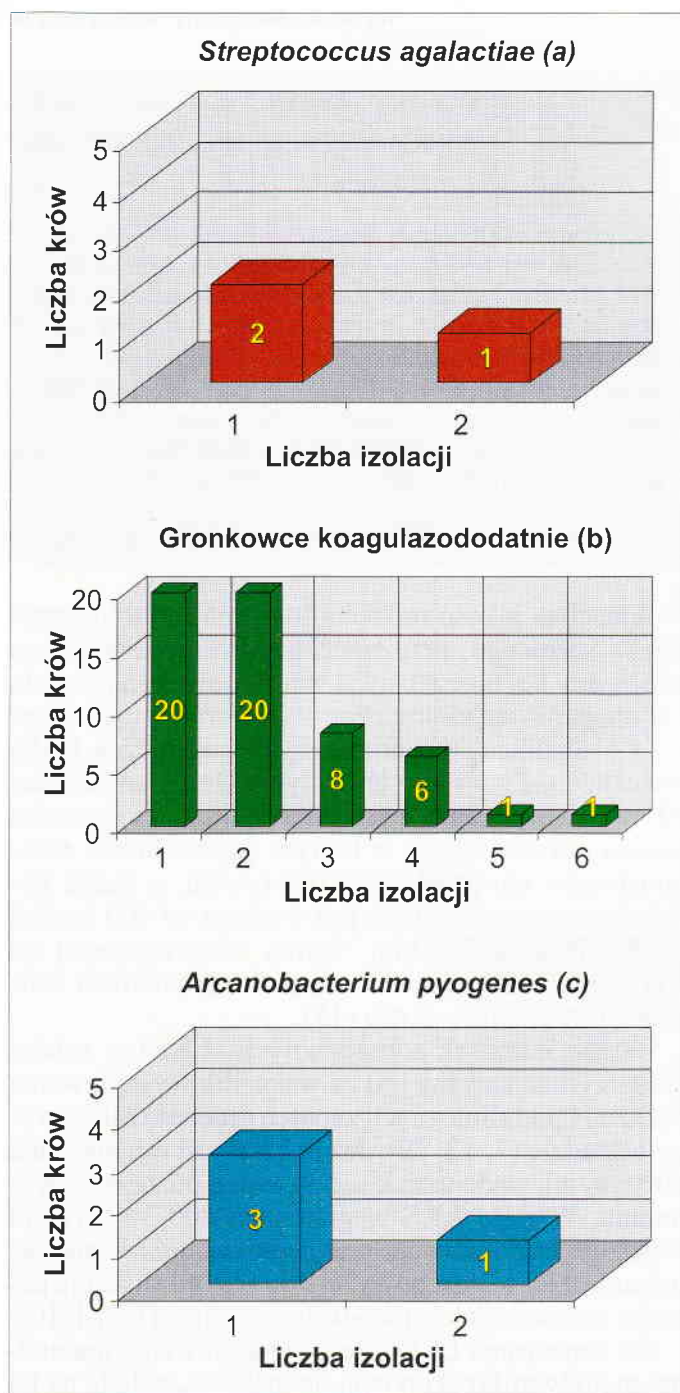
W okresie 9 miesięcy zbadano 352 próbki pochodzące od 46 krów. W badaniach tych stwierdzono różnorodną mikroflorę (tab. 1). Do badań wybrano krowy nie wykazujące klinicznych objawów *mastitis*, jednak w okresie obserwacji kliniczna postać wystąpiła u 21 krów. Bakteryjnymi czynnikami etiologicznymi tych przypadków były gronkowce koagulazododatnie (*S. aureus*, *S. intermedius* – ryc. 1b), paciorkowce bezmleczności (*S. agalactiae* – ryc. 1a), *Arcanobacterium pyogenes* (ryc. 1c), pałeczki okrężnicy (*E. coli*) i gronkowce koagulazoujemne (*S. epidermidis*). Pierwsze przypadki stwierdzono już w drugim badaniu po wyselekcjonowaniu grupy. W kolejnych miesiącach liczba zachorowań wzrastała, osiągając najwyższe wartości w lipcu i listopadzie (tab. 2). Najczęściej ich przyczyną były gronkowce koagulazododatnie, które w okresie obserwacji stwierdzono u 11 badanych krów, zwykle kilkakrotnie u tej samej krowy. W dalszej kolejności czynnikami etiologicznymi zapaleń klinicznych były: *S. agalactiae*, *Arcanobacterium pyogenes*

Tab. 1. Liczba izolacji poszczególnych drobnoustrojów z mleka krów w okresie 9 miesięcy obserwacji

Drobnoustrój	Liczba izolacji
<i>Staphylococcus aureus</i>	90
<i>Staphylococcus intermedius</i>	27
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	60
<i>E. coli</i>	27
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4
<i>Streptococcus uberis</i>	1
Laski tlenowe	17
Paciorkowce zieleniejące	15
<i>Gemella morbillorum</i>	5
<i>Enterococcus spp.</i>	5
Pałeczki Gram-ujemne	13
<i>Micrococcus spp.</i>	9
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	5
Gronkowce $\beta$ -hemolizujące koagulazoujemne	7

w drugim badaniu po wyselekcjonowaniu grupy. W kolejnych miesiącach liczba zachorowań wzrastała, osiągając najwyższe wartości w lipcu i listopadzie (tab. 2). Najczęściej ich przyczyną były gronkowce koagulazododatnie, które w okresie obserwacji stwierdzono u 11 badanych krów, zwykle kilkakrotnie u tej samej krowy. W dalszej kolejności czynnikami etiologicznymi zapaleń klinicznych były: *S. agalactiae*, *Arcanobacterium pyogenes*

*ogenes* i gronkowce koagulazoujemne, powodujące zachorowania łącznie 9 krów (tab. 2). *S. agalactiae* wyosobniono z próbek mleka tylko czterokrotnie i wszystkie te izolacje pochodziły od krów wykazujących kliniczne objawy *mastitis*. Podobne relacje obserwowano u krów z infekcjami *A. pyogenes*. Pięć izolacji uzyskano od 3 krów, u których zarazki te były przyczyną ropnych zmian zapalnych w wymieniu. Gronkowce koagulazododatnie były powodem klinicznych postaci *mastitis* tylko u około 28% krów z grupy 40, u których stwierdzono ich obecność. W marcu, pomimo największej liczby izolacji tych drobnoustrojów, nie stwier-



Ryc. 1. Częstotliwość izolacji *Streptococcus agalactiae*, gronkowców koagulazododatnich i *Arcanobacterium pyogenes* z mleka badanych krów

Tab. 2. Liczba izolacji patogennych drobnoustrojów z próbek mleka wymieniowego i odpowiadająca im liczba przypadków klinicznych postaci *mastitis* w kolejnych miesiącach

Drobnoustrój	Marzec	Kwiecień	Maj	Czerwiec	Lipiec	Sierpień	Wrzesień	Październik	Listopad	Suma	Liczba krów
Gronkowce koagulazododatnie	22 (0)	2 (1)	17 (7)	11 (3)	16 (11)	15 (5)	16 (9)	6 (6)	12 (10)	117 (52)	40 (11)
Gronkowce koagulazoujemne	1 (0)	-	1 (0)	10 (2)	11 (3)	6 (2)	8 (1)	13 (1)	10 (2)	60 (11)	30 (3)
<i>E. coli</i>	1 (0)	-	1 (1)	4 (0)	4 (0)	5 (0)	5 (0)	3 (0)	4 (1)	27 (2)	17 (1)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 (0)	-	1 (1)	-	-	1 (1)	-	1 (1)	-	4 (3)	3 (3)
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	-	-	-	3 (1)	-	2 (2)	-	-	-	5 (3)	3 (3)
Razem	25 (0)	2 (1)	20 (9)	28 (6)	31 (14)	29 (10)	29 (10)	23 (8)	26 (13)	213 (71)	(21)*

Objaśnienia: (x) liczba przypadków *mastitis* stwierdzonych w badaniu klinicznym, wywołanych określonym drobnoustrojem; \* liczba krów, u których stwierdzono *mastitis*

dono ani razu klinicznej postaci *mastitis* (tab. 2). Ponadto w kilkunastu próbkach mleka krów z klinicznymi objawami *mastitis* poza gronkowcami koagulazododatnimi stwierdzono również inne drobnoustroje uznawane za czynniki etiologiczne zapaleń gruczołu mlekowego (*E. coli*, gronkowce koagulazoujemne, *S. uberis*). Podobnie w przypadku infekcji *E. coli*, na 27 izolacji tej bakterii, tylko dwukrotnie i to u tej samej krowy, na podstawie charakteru wzrostu (monokultura) można było uznać wyosobnione szczepy za wyłączną przyczynę klinicznych stanów zapalnych. W pozostałych przypadkach izolacjom pałeczek okrężnicy towarzyszyły inne patogenne drobnoustroje (*S. aureus*, *S. agalactiae*), ale wobec braku danych o ich czynnikach wirulencji, ich udział w etiologii może budzić wątpliwości. Na tych samych zasadach patogenną rolę *S. epidermidis* uznawano jedynie w przypadkach izolacji tych bakterii jako jedynego reprezentanta mikroflory. Tego rodzaju sytuację obserwowano u 3 krów, u których te drobnoustroje jedenastokrotnie w okresie badań były powodem zapalenia wymion (tab. 2).

W każdym przypadku wyosobnienia patogennych bakterii oznaczano ich wrażliwość na antybiotyki, na podstawie której stosowano leczenie. Efektem terapii były niejednokrotnie ujemne wyniki posiewów w najbliższych badaniach, po czym, szczególnie w odniesieniu do gronkowców, występowały reinfekcje.

Uzyskane wyniki wskazują na brak prostych zależności między wzrostem liczby komórek somatycznych a obecnością w badanych próbkach mleka patogennych drobnoustrojów. Zaskakuje natomiast, że niejednokrotnie w próbkach pobranych od krów z klinicznymi postaciami *mastitis* stwierdzano liczbę komórek somatycznych niższą od 400 tys. w 1 ml, co oznacza, że mleko to spełniało wymagania normy. W 27 takich przypadkach, w których w mleku krów z klinicznym zapaleniem gruczołu mlekowego stwierdzono patogenne drobnoustroje, LKS oznaczona w badaniach kon-

troli użytkowości nie przekraczała 400 tys./ml. Krowy te były dojone jako ostatnie, a ich mleko wylewane, jednak zgodnie z założeniem badań własnych poddawano je nadal comiesięcznej kontroli.

U poszczególnych krów częstotliwość i powtarzalność izolacji drobnoustrojów typowych dla *mastitis* oraz zachowanie się LKS ulegały zmianie w okresie monitoringu. U dwu z nich, pomimo stosowanej terapii, sześciokrotnie w kolejnych badaniach izolowano gronkowce złociste, a równocześnie oznaczana LKS wykazywała znaczne różnice wartości. Podobne wyniki uzyskano również u krów, u których powtarzalność izolacji zarazków w kolejnych badaniach była mniejsza (ryc. 1).

W statystycznym obrazie ogółu zbadanych 352 próbek, wartości LKS wyższe od 400 tys./ml stwierdzono w ponad połowie z nich (201). Z kolei w badaniach bakteriologicznych tych próbek, tylko ze 130 wyosobniono drobnoustroje, spośród których jedynie w 107 przypadkach były to patogeny gruczołu mlekowego. W pozostałych 71 próbkach z podwyższoną LKS nie stwierdzono obecności bakterii.

W badaniach 151 próbek, w których LKS była zgodna z polską normą, relacje były podobne. Ogółem 90 z nich zawierało drobnoustroje, wśród których w 73 próbkach stwierdzono patogeny wymienia.

Wstępna ocena uzyskanych wyników badań sugeruje więc, że w przypadkach stwierdzenia w wymieniu patogennych drobnoustrojów nie ma prostych zależności między ich obecnością a zachowaniem się LKS, nawet wtedy gdy występują kliniczne stany zapalne. Należy także podkreślić, że w okresie prowadzenia badań LKS u obserwowanej grupy krów ulegała zmianom. Podstawą jej selekcji była LKS wyższa od 400 tys./ml i brak zmian klinicznych w wymieniu. W kolejnych badaniach parametry selekcyjne ulegały jednak zmianom. U żadnej z badanych krów podwyższone wartości LKS nie były stwierdzane w całym okresie monitoringu. U szeregu z nich obserwowano

okresowe wahania tego parametru bez rozwoju klinicznych postaci *mastitis*, u innych natomiast kliniczne objawy zapalenia gruczołu mlekowego pojawiały się i najczęściej były powodowane przez *S. aureus*.

Analizując u poszczególnych zwierząt relacje między LKS a obecnością patogennych bakterii stwierdzono, że u 18 z nich wzrost LKS nie pozostawał w związku z wynikami posiewów bakteriologicznych. Z kolei u dalszych 13, u których liczba komórek somatycznych odpowiadała normie, wyniki posiewów ich mleka, w tym także próbek pochodzących ze stanów klinicznych, powinny uzasadniać jej podwyższenie. Jedynie u 15 krów obserwowano korelację między wyosobnieniem patogenów *mastitis* i ponadnormatywnymi wartościami LKS. Udział w indukcji stanów zapalnych drobnoustrojów nie zaliczanych do typowych patogenów tego gruczołu jest trudny do oceny, ponieważ w większości przypadków były one wyosobniane łącznie z tymi patogenami.

W mleku pochodzącym ze zdrowego gruczołu mlekowego LKS jest znacznie niższa od 100 tys./ml (6, 10). Fizjologiczne jej podwyższenie stwierdzane jest w późnym okresie laktacji oraz w pierwszych i ostatnich strugach mleka (6, 13). Najczęściej jednak wzrost liczby komórek somatycznych w mleku wskazuje na toczący się w gruczole mlekowym proces zapalny. Jest to wynik migracji leukocytów oraz działania mediatorów zapalenia w odpowiedzi na pojawienie się w tkance gruczołowej i ścianie przewodów wyprowadzających gruczołu mlekowego patogennych drobnoustrojów lub innych czynników zapaleniotwórczych (1, 10-12, 18). W badaniach własnych obserwowano jednak odstępstwa od tej prawidłowości, gdyż w kilku przypadkach stanów klinicznych potwierdzonych obecnością w mleku tych krów patogennych bakterii, LKS oznaczona w ramach kontroli użyteczności była niższa od 400 tys./ml. Aktualny stan wiedzy na ten temat każe jednak wątpić w możliwość rozwoju klinicznego procesu zapalnego bez mobilizacji komórek układu odpornościowego. W tej sytuacji prawdopodobną przyczyną takich rezultatów są błędy w procedurze pobierania próbek mleka (np. błędy w ich oznakowaniu), niewłaściwy sposób przechowywania i transportowania próbek (zbyt długi czas transportu, nieodpowiednia temperatura). Zatem właściwa organizacja monitorowych badań laboratoryjnych, eliminująca wymienione nieprawidłowości, zapewnia rzetelność ich wyników. Wyniki tych badań wykorzystywane są przez nadzorujących gospodarstwa lekarzy m.in. do wczesnego wykrywania zapaleń podklinicznych. Podkliniczny charakter schorzenia ma najczęściej przebieg przewlekły i powodowany jest infekcjami bakteryjnymi (3, 6, 7, 9, 11, 18). Z powodu braku widocznych objawów klinicznych (obrzęk i zaczerwienienie wymienia, bolesność, stwardnienie) oraz zmian fizykochemicznych mleka, hodowca nie podejmuje leczenia. Krowy cierpiące na przewlekłe, podkliniczne zapalenie gruczołu mlekowego stanowią potencjal-

ne zagrożenie dla zdrowych zwierząt w danym stadzie oraz przyczyniają się do obniżenia jakości mleka zbiorczego i zmniejszenia dochodu właściciela stada (3, 14). Z tych powodów okresowe monitorowanie laboratoryjnych wskaźników zdrowia wymienia powinno stać się jednym z elementów standardowego programu nadzoru nad jakością zdrowotną pozyskiwanego mleka, wykonywanego zgodnie z zasadą „od pola do stołu” (5). Wyniki tych badań dostarczyłyby bowiem odpowiednio wcześniej danych, na podstawie których decydowano by o postępowaniu z krowami, których mleko nie spełnia wyżej wymienionych kryteriów.

## Pśmiennictwo

1. Barkema H. W., Schukken Y. H., Lam T. J., Beiboer M. L., Wilmink H., Benedictus G., Brand A.: Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell count. *J. Dairy Sci.* 1998, 81, 411-419.
2. Borkowska D., Różycka G.: Wyniki testu TOK u krów w gospodarstwach specjalizujących się w produkcji mleka. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 578-580.
3. Bosted H., Boryczko Z., Scheid T.: Diagnostyka i terapia ostrych postaci zapalenia gruczołu mlekowego u krów. *Życie Wet.* 2001, 76, 477-479.
4. Czupa S., Czupa M.: Diagnostyka laboratoryjna mastitis u krów. *Życie Wet.* 2001, 76, 471-473.
5. Dyrektywa Rady UE Nr 92/46/EEC z dnia 16.06.1992 r.
6. Harmon R. J.: Physiology of mastitis and factors affecting somating cell counts. *J. Dairy Sci.* 1994, 77, 2103-2112.
7. Kłossowska A., Malinowski E.: Drobnoustroje patogenne dla człowieka w mleku zbiorczym. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 28-31.
8. Kotowski K., Smażdż W.: Ocena jakości higienicznej mleka surowego w latach 1998-1999. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 190-192.
9. Kroll J., Cais-Sokołińska D., Pitul J.: Jakość higieniczna mleka surowego. *Medycyna Wet.* 2000, 56, 129-131.
10. Malinowski E.: Komórki somatyczne mleka. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 13-17.
11. Malinowski E.: Znaczenie i profilaktyka mastitis – perspektywy. *Życie Wet.* 2001, 76, 467-471.
12. Miller R. H., Paape M. J., Fulton L. A.: Variation in milk somatic cells of heifers at first calving. *J. Dairy Sci.* 1991, 74, 3782-3790.
13. Mysłowska G.: Komórki somatyczne problemem w produkcji mleka. *Arch. Dolnośl. Inf. Roln.* 2000, s. 11.
14. Ott S. L., Novak P. R.: Association of herd productivity and bulk tank somatic cell counts in US dairy herds in 1996. *Aw. Vet. Med. Als.* 2001, 218, 1325-1330.
15. Polska Norma PN-95/A-86002. Mleko surowe do skupu.
16. Wawron W.: Występowanie, diagnostyka i leczenie subklinicznych postaci mastitis u krów. *Życie Wet.* 2001, 76, 474-476.
17. Wilkie F., Harrigan: *Laboratory Methods in Food Microbiology.* Academic Press Limited, London 1998, 234-250.
18. Wilson D. J., Gonzales R. N., Das H. H.: Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: Prevalence and effects on somatic cell count. *J. Dairy Sci.* 1997, 80, 2592-2598.

Adres autora: lek. wet. Małgorzata Czerw, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław; e-mail: mczerw@ozi.ar.wroc.pl

**L'ABEE-LUND T. M., HEIENE R., FRIIS N. F., AHRENS P., SØRUM H.: *Mycoplasma canis* a choroby układu moczowo-płciowego u psów w Norwegii. (*Mycoplasma canis* and urogenital disease in dogs in Norway). *Vet. Rec.* 153, 231-235, 2003 (8)**

*Mycoplasma canis* wyosobniono w latach 1998-1999 z 8 na 140 badanych próbek moczu pochodzących od psów z objawami schorzeń układu moczowo-płciowego w Norwegii. Część psów leczono uprzednio bez większych efektów antybiotykami. Trzy psy uśpiono z powodu postępu choroby. U 7 psów zdiagnozowano zakażenie układu moczowego, u jednego ropne zapalenie najądrzy, u jednego wystąpiło chroniczne zapalenie prostaty. U psów z zapaleniem pęcherza moczowego występował często krwimocz. *M. canis* wyizolowano w czystej hodowli od 7 psów, w 3 przypadkach zarazek izolowano wyłącznie z osadu moczu.