

CZESŁAW KUREK

Badania nad występowaniem drobnoustrojów rodzaju *Corynebacterium* w gruczołach mlecznych krów. I. Diagnostyka laboratoryjna, inwentaryzacja i sezonowość występowania

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku

Kierownik: dr E. STRZELECKI

Spośród bakteryjnych czynników etiologicznych wywołujących *mastitis* u krów rola i znaczenie maczugowców są mało znane. Z doniesień Lubienieckiego i Żebrackiego (12), Kotoskiego (7) i innych wynika, że przypadki *mastitis pyogenes* są notowane na terenie kraju ale ich występowanie zdaje się mieć charakter sporadyczny co mogłoby wskazywać, że zakażenia wywoływane przez te drobnoustroje nie stanowią problemu zdrowotnego i ekonomicznego, o którym w innych krajach sygnalizują liczni autorzy (5, 10, 15). Lubieniecki (13) wykazał stany zapalne wymienia wywołwane przez maczugowce u 0,6% krów badanych w zespole 6 obór hodowli wielkostadnej woj. krakowskiego. Na podstawie badań własnych nad *mastitis* w woj. gdańskim (8) stwierdzono, że spośród 1742 krów z bakteryjnymi zakażeniami wymienia maczugowce wykazano w 785 ćw. wymieniowych (11,4%) a procesy zapalne o klinicznym i podklinicznym przebiegu występowały w 714 ćw. wymienionych (10,3%). Wykazano również, że drobnoustroje te mogą wywoływać *mastitis pyogenes* u jałówek hodowli wielkostadnej (9) a u krów zasuszonych stwierdzono ich obecność w 26,3% badanych próbkach wydzieliny gruczołowej, z których 19,3% wykazywało zmiany organoleptyczne o charakterze zapalnym (10).

Ponieważ stopień zakażenia gruczołów wymieniowych krów wywołwany przez maczugowce w poszczególnych stadach hodowli wielkostadnej jest nieznany, jak również napotyka się na trudności w rutynowej diagnostyce tych stanów, podjęto w tym kierunku badania. W niniejszej pracy starano się ocenić laboratoryjne metody rozpoznawania maczugowców oraz przeprowadzić inwentaryzację tych zakażeń w aspekcie aktualnie stosowanych zasad interpretacyjnych. Określono również sezonowość występowania zakażeń u krów leczonych i nieleczonych przeciw *mastitis*.

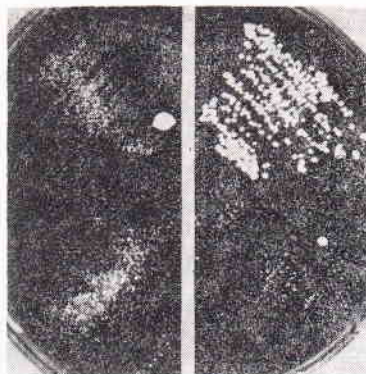
Materiał i metody

W okresie od 1970—1972 r. poddano badaniom bakteriologicznym mleko ściągane 1243 krów rasy ncb, różnego wieku i w różnych porach roku, które pochodziły z 23 obór hodowli wielkostadnej wybranych losowo. Próbkę mleka 988 krów z 19 obór badano jednorazowo, natomiast mleko 225 krów z 4 obór badano wielokrotnie. Krowy jednej z obór (S) były za-

suszane pod osłoną antybiotyków przy stosowaniu 500000 j.m. penicyliny prokainowej i 0,5 g streptomycyny wprowadzanych jednorazowo dowymieniowo w infuzjach wodnych po ostatnim pozyskaniu mleka. Pobierano mleko zatokowe i wysiewano wg zasad już opisanych (8) na agarze odżywczych z dodatkiem 5% krwi końskiej oraz podłożu Edwardsa w modyfikacji Chodkowskiego (2), które inkubowano 24 godziny w temp. 37°C w warunkach tlenowych. Wyniki czytano tuż po inkubacji oraz po 24 i 48 godzinach przetrzymywania posiewów w temp. pokojowej. Interpretację bakteriologicznych wyników badań w odniesieniu do paciorkowców oparto o zasady już stosowane (8), natomiast wzrost kolonii podejrzanych o maczugowce oceniano na podstawie: właściwości makroskopowych na podłożu z krwią, sposobu barwienia i cech morfologicznych, wzrostu w bulionie wątrobowym z dodatkiem 1% glikozy w temp. +4°C przez 24 dni (14), ruchu w kropli wiszącej, wzrostu w bulionie zwykłym i z dodatkiem 10% surowicy końskiej w temp. 37°C i na podłożu Clauberga II (11). Terenowy Odczyn Komórkowy (TOK), do którego używano odczynnika Mastirapid produkcji Biovet i ocenę stanu zdrowotnego gruczołów wymienionych dokonywano wg Wiśniewskiego i wsp. (17).

Wyniki

Badania bakteriologiczne. Wyosobniono 800 szczepów podobnych do maczugowców, z których 41 wyrosło po 24 godzinach, 201 po 48, a 553 po 72 godzinach na agarze odżywczym z krwią. Kolonie były początkowo bardzo małe, szaro-białe, wysklepione ponad powierzchnię podłoża i upadabniały się do ziarenek kaszki manny. Wygląd ich oraz stosunek średnicy do wyrosłych równoległe kolonii gronkowców ilustruje ryc. 1. W obrazie mikroskopowym przedstawiały się jako pałeczki ułożone często palisadowo, lekko zagięte o cechach polimorficznych, niejednokrotnie w postaci litery Y, barwiące się met. Grama dodatnio, pozbawione ruchu. Badaniem mikroskopowym stwier-



Ryc. 1. Wzrost gronkowców i maczugowców na podłożu odżywczym z 5% krwi końskiej. Wysiew 0,01 ml mleka, powiększenie 1,2 X

dzono u 16 szczepów charakterystyczny układ podobny do ziarniaków, które na tej podstawie wyłącznie z dalszych obserwacji. Celem wykluczenia gatunku *Listeria*, wszystkie szczepy inkubowano w bulionie wątrobowym z 1% glikozy w temp. +4°C przez okres 24 dni. Po 12 dniach stwierdzono w dwu posiewach zmętnienie i wzrost drobnoustrojów, które na podstawie badań uzupełniających zaliczono do *Listeria monocytogenes*. Wszystkie szczepy maczugowców cechowała serofilia a wzrost w bulionie z dodatkiem 10% surowicy końskiej przebiegał w postaci tworzenia się kłaczków i ziarnistych grudek na dnie przy minimalnym zmętnieniu bulionu. Pierwszy pasaż maczugowców przez bulion pozwalał zaobserwować na jego powierzchni cienką błonę powierzchniową opadającą przy wstrząsie na dno. Jednokrotny pasaż drobnoustrojów na agarze z krwią dawał wzrost szarych i lekko śluzowych kolonii zbliżonych wyglądem do paciorkowców bezmleczności. Na podłożu Clauberga II (11) nie stwierdzono charakterystycznych cech wzrostu odróżniających maczugowce od ziarniaków. Na podstawie w/w właściwości hodowlanych i morfologicznych 782 szczepy spośród 800 badanych zaliczono do rodzaju *Corynebacterium*.

Występowanie maczugowców w gruczołach mlecznych krów.

Tab. 1. Występowanie maczugowców w gruczołach wymieniowych krów hodowli wielkostatnej w zakażeniach pojedynczych i mieszanych oraz postaci *mastitis*

Ilość		Postacie mastitis				% zakażonych	
		II	III	IV			
		Flora bakteryjna					
krow	obór	C	Cp	Cg	C	krów	cm wymiennik
		ilość					
103	3		3		1	27-46	27-09
			3		1		
296	4	1	11	1	22	112-222	3-75
		2	13	1	50		
107	2	1	16	2	1	181-20	5-102
		1	25	2	2		
120	3	3	1	23	1	8	25-29,6
		3	1	37	1	13	49-11
72	3		20	2	2	362-353	83-11
			24	2	2		
104	1	3	1	17	2	4	40,3
		6	2	46	2	4	20,9
				8			
17	1			12			47,0
							17,6
81	1			45	1		56,8
				61	1		10,1
88	1	5		46	1	1	88,6
		13		48	1	67	65,9
588	19	13	1	89	9	70	1
		25	2	369	9	151	1

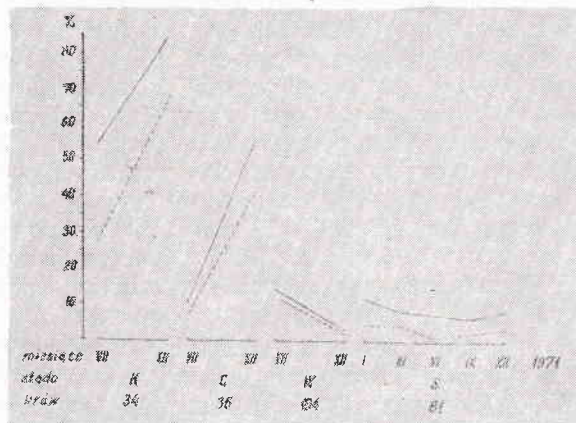
Objaśnienie: C — maczugowce; Cp — maczugowce i paciorkowce; Cg — maczugowce i gronkowce; II — kliniczna postać mastitis, krów 1,5%, ćw. wym. 2,8%; III — podkliniczna postać mastitis, krów 20,9% ćw. 9,8%; IV — bezobjawowe nosicielstwo bakteryjne, krów 16,2%, ćw. wym. 4%

Z danych przedstawionych w tab. 1 wynika, że odsetek zakażeń wywoływanych przez maczugowce wahał się w szerokim zakresie i obejmował w poszczególnych stadach od 0,7 do 65% ćw. wymieniowych u 2,7—88,6% krów. W 27 ćw. wymieniowych zakażenie określono jako kliniczną postać *mastitis*, która w swym przebiegu nie odbiegała od zakażeń wywoływanych przez paciorkowce wzgl. gronkowce. W grupie zwierząt z bezobjawowym bakteryjnym zakażeniem wymienia, które wykazano u 16,2% krów i w 4% ćw. wymieniowych, odsetek zakażeń mieszanych wynosił 1,2%. U 1,5% krów z kliniczną postacią *mastitis* (2,8% ćw. wymieniowych) maczugowce w asocjacji z paciorkowcami wzgl. gronkowcami wykazano w 12%. Ana-

logiczne zakażenia mieszane 20,9% krów z podklinicznymi postaciami *mastitis* (9,8% ćw. wymieniowych) występowały w 4,8%.

Sezonowość występowania maczugowców w gruczołach wymieniowych krów.

Ryc. 2. Sezonowość występowania maczugowców w gruczołach mlecznych krów



— krowy — — — — — ćwiartki wymienia,
S - krowy zasuszane pod osłoną antybiotyków

Jak wynika z ryc. 2 w stadach K, C i W zaznaczyły się znaczne różnice w odsetkach zakażeń gruczołowych w miesiącu lipcu i grudniu. U krów stada K nastąpił wzrost zakażeń z 54,3 do 83,1% (27,5—65,9% ćw. wymieniowych), w stadzie C z 9 do 56% krów (6,25—41% ćw. wymieniowych), natomiast w analogicznych okresach w stadzie W ilość zakażeń u krów zmniejszała się z 14,2 do 2,7% (12—1,5% ćw. wymieniowych). W stadzie S, w którym badania powtarzano co 3 miesiące i w którym wszystkie krowy były zasuszane pod osłoną antybiotyków, odsetek zakażonych krów wahał się od 12—8,4—7,4—6,2—8,1%. Odsetek zakażonych ćw. wymieniowych w analogicznych okresach czasu wynosił 4,4—4,2—0,6—2,7—3,5%.

Omówienie wyników

Z opisanej metodyki badań bakteriologicznych wynika, że wyosobnienie maczugowców z mleka w oparciu o niektóre ich właściwości hodowlane i morfologiczne bez oznaczenia przynależności gatunkowej nie nastręcza trudności. Do powyższego celu nie nadaje się jednak odczyn Hotisa (OH), co wykazano w innych badaniach (8).

Wykazanie tak znacznego odsetka maczugowców w gruczołach wymieniowych krów naszej hodowli wielkostatnej, których udział w patogeniezie *mastitis* wydaje się być bezsporny, jest faktem dotychczas nieznanym w krajowym piśmiennictwie epizootologicznym. W ten sposób potwierdzony został pogląd Żebrackiego (18, 19) o niedocenianiu roli tych drobnoustrojów w patogeniezie *mastitis* u krów w Polsce. Wprawdzie nie zaobserwowano klinicznych postaci *mastitis pyogenes* z charakterystyczną wydzieliną ropną (7, 12), mogłoby to jednak być wynikiem stosowanego często przez służbę weterynaryjną leczenia schorzeń wymienia na zasadzie *ex iuvantibus*. W ten sposób wczesne podawanie środków leczniczych zdaje się hamować rozwój objawów

klinicznych uważanych dotychczas za patogeniczne dla tej jednostki chorobowej. Znaczący był też udział maczugowców w niektórych stadach w bezobjawowym zakażeniu gruczołów wymieniowych krów. Jak stwierdzono, występowanie ich jako komensali w asocjacji z paciorkowcami wzgl. gronkowcami obserwowane było wyjątkowo, co potwierdza wyniki obserwacji wcześniejszych (8). Wg Bourlanda i wsp. (1) uzjadliwianie się maczugowców ma następować pod wpływem działania estrogenów. Występowanie znacznego odsetka maczugowców w zasuszonych gruczołach wymieniowych przy równoczesnym wywoływaniu zmian zapalnych zdaje się również wskazywać na negatywne skutki zakażeń bezobjawowych, które w czasie zasuszania wymienia mogą przechodzić w czynne procesy chorobowe (10).

Sezonowe różnice w odsetkach występujących zakażeń gruczołowych krów stad C, W i K w lipcu oraz grudniu nasuwają trudności interpretacyjne. O ile bowiem wzrost ilościowy zakażeń w okresie zimowym można by tłumaczyć zwiększoną wrażliwością zasuszonych i świeżo laktujących gruczołów mlecznych (6, 9, 11, 15, 18, 19), to zjawisko odwrotne w stadzie W. w okresie letnim trudno tłumaczyć rolą much, którym do niedawna przypisywano zasadnicze znaczenie wywoływania zakażeń tymi drobnoustrojami (4, 15). Nie wyklucza się wprawdzie, że istnieje pewna zależność między występowaniem stacjonarnym tych zakażeń, a warunkami ekologicznymi (4), jednakże dynamika ich rozprzestrzeniania się i towarzyszące zakażeniom odczyny odpornościowe zachodzące w wymieniu ze szczególnym uwzględnieniem roli bariery komórkowej, jak również zjawisko antybiozy bakteryjnej, które zdaje się odgrywać pewne znaczenie w zakażeniu maczugowcami — są mało znane. Niski odsetek maczugowców u krów w stadzie S jak również niewielkie wahania roczne tych zakażeń, wskazują na korzystny wpływ zabiegu zasuszania krów pod osłoną antybiotyków w eliminowaniu maczugowców z gruczołów wymieniowych.

Wnioski

1. Zakażenie gruczołów wymieniowych krów hodowli wielkostatnej drobnoustrojami *Corynebacterium* i wywoływane przez nie postaci *mastitis*, zdają się mieć niemniejsze znaczenie ekonomiczne jak zakażenia wywoływane przez paciorkowce wzgl. gronkowce.

2. Diagnostyka laboratoryjna *mastitis* u krów winna obejmować również maczugowce.

3. Zasuszenie krów pod osłoną antybiotyków jest skuteczną metodą w eliminowaniu maczugowców z gruczołów wymieniowych krów.

Piśmiennictwo

1. Bourland C. T., Marshall R. T., Hindery G. A., Turner C. W.: J. Dairy Sci. 50, 978, 1967.
2. Chodkowski A.: Medycyna Wet. 4, 701, 1948.

3. Grabe A.: Die Pyogenes Mastitis beim Rind im Kreis Lüneburg in der Jahren 1964 und 1965. Inaugural Dissertation, Hochschule, Hannover, 1969.
4. Karmann P.: Zeitschr. f. Infektionskrankh. 34, 2, 1928.
5. Kotsche W.: Mh. vet.-Med. 19, 761, 1967.
6. Kotsche W.: Mh. vet.-Med. 17, 297, 1963.
7. Kotowski K.: Medycyna Wet. 27, 166, 1971.
8. Kurek C.: Medycyna Wet. 27, 661, 1971.
9. Kurek C., Cygiert S.: Medycyna Wet. 27, 538, 1971.
10. Kurek C., Stawicki W.: Medycyna Wet. 28, 462, 1972.
11. Linsert H., Shimmel D., Kielstein P.: Arbeitsmethoden des Laboratoriums in der Veterinarmedizin, Mappe I, II, S. Hirzel Verlag Leipzig, 1970.
12. Lubieniecki B., Zebracki A.: Prz. hod. 21, 7, 1969.
13. Lubieniecki B.: Praca doktorska, Wyższa Szkoła Rol.-Wydziel. Wet. w Olsztynie, 1971.
14. Simon C.: Z. Hyg. 143, 159, 1956.
15. Untermann F.: Dt. tierärztl. Wschr. 20, 482, 1965.
16. Utpott J.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 77, 234, 1964.
17. Wiśniowski J.: Biuletyn Informacyjny I. Wet. Puław, 2, 15, 1964.
18. Zebracki A.: Prz. hod. 12, 21, 1967.
19. Zebracki A.: Prz. hod. 13—14, 25, 1967.

Adres autora: dr Czesław Kurek, Gdańsk-Oliwa, ul. Kaprów 10, ZHW.

Panu Doc. dr habil. Antoniemu Zebrackiemu z Wydziału Weterynaryjnego Akademii Rolniczej w Olsztynie, autor składowy, serdecznie podziękowania za chwilę dyskusji, dzięki której podjęto niniejsze badania.

Курек Ч. — Исследования по появлению бактерий рода *Corynebacterium* в молочных железах коров. I. Лабораторная диагностика, инвентаризация и сезонность появления.

Исследовали появление палочек рода *Corynebacterium* в молочных железах 988 коров из 19 больших хозяйств и сезонность инфекции в 4 стадах. В отдельных хозяйствах процент инфицированных четвертей вымени составлял 0,7—65%, а процент больных коров равнялся 2,7 до 88,6%. Клиническую форму мастита без гнойных изменений обнаружили у 1,5% коров (2,8% четвертей вымени), субклиническую у 20,9% коров (9,8% четвертей вымени), бессимптомное носительство бактерий у 16,2% коров (4% четвертей вымени). Палочки *Corynebacterium* вместе с стрептококками или стафилококками установили при бессимптомных инфекциях у 1,2% коров, при субклинических у 4,8% коров и при клинической форме мастита у 12% коров. В стадах обнаружили высокий процент коров инфицированных палочками *Corynebacterium* в декабре, а низкий в июле но в одном стаде это соотношение было обратное. Засушивание коров под прикрытием антибиотиков вызывало торможение появления сезонных различий и понижение числа инфекций. Описали основы лабораторной диагностики палочек рода *Corynebacterium* без идентификации их видов.

Kurek C. — Examinations on the occurrence of the bacteria of *Corynebacterium* genus in the udders of milking cows. I. Laboratory diagnosis, listing and seasonal occurrence.

There were examined the occurrence of the strains of *Corynebacterium* genus in the udders of 988 cows from 19 cowsheds (from great scale breeding) and seasonal character of infections in 255 cows from 4 herds. The percentage of infections compared from 0.7 to 65.0 quarters in 2.7—88.6 cows. Clinical forms of mastitis without purulent changes were found in 1.5% of cows (2.8% of quarters), subclinical course of the disease was noted in 20.9% of cows (9.8% of quarters) and besides asymptomatic bacterial carrier state was diagnosed in 16.2% of cows (4.0% of quarters). The percentage of corynebacteria with streptococci or staphylococci was 1.2 in asymptomatic infections, 4.8 in subclinical and 12 in clinical forms of mastitis. In two herds there was found a high percent of corynebacteria in December and low in July; in one herd this relation was adverse. The process of drying in cows and the antibiotic treatment inhibited seasonal differences and decreased the percentage of infections. The principles of laboratory diagnosis of corynebacteria were described (without species differentiation).