

Uradziński J. — The influence of sublethal heating on proteolytic properties of *Pseudomonas aeruginosa*.

The purpose of the studies was to establish the influence of heating at the range of sublethal temperatures on proteolytic properties of *Pseudomonas aeruginosa*, strain no 159. Proteolytic properties have been determined in a gelatinase production test of Frazier, and in this test in the own modification. The examinations were performed paralelly with non-heated micro-

organisms (control) and those heated for 15 min at 44, 56, 68, 80 and 84°C. For each temperature ten replications were done.

It was found that heating of *P. aeruginosa* at 44°C diminished the intensity of gelatinase production by 10.38%. Heating at higher temperatures: 56°C, 68°C and 80°C diminished to a greater extent the production of enzyme by 28.95%, 40.0% and 53.28%, respectively. Heating at 84°C caused bacterial death.

## PATOLOGIA I TERAPIA

EDWARD MALINOWSKI

### Colimastitis u krów

Z Kliniki Położniczej Instytutu Chorób Niezakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Spośród czynników bakteryjnych, będących przyczyną zapaleń wymienia u krów, podstawowe znaczenie mają gronkowce, paciorkowce i pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*. Gronkowce i paciorkowce stwierdza się najczęściej w zapaleniach przewlekłych — klinicznych i podklinicznych oraz w stanach utajonego zakażenia gruczołu mlekowego (6, 12, 14, 15, 20, 33, 34, 39, 46). Drobnoustroje z rodziny *Enterobacteriaceae* natomiast stanowią czynnik etiologiczny zapaleń ostrych i nadostrych (5, 7, 12, 14, 20, 25, 26, 33, 36, 41, 46). Z pałeczek należących do tej rodziny przyczyną *mastitis* jest najczęściej *Escherichia coli*, rzadziej *Klebsiella pneumoniae* i *Enterobacter aerogenes*, a w pojedynczych przypadkach także *Proteus vulgaris*, *Proteus morgani*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella cloacae*, *Salmonella* sp., *Citrobacter* sp. (7, 9, 11, 24, 30, 32, 33, 36). Ze względu na charakterystyczny przebieg i najczęstszy udział *E. coli* jako czynnika etiologicznego zapalenia gruczołu mlekowego u krów, wywołane przez wymienione wyżej pałeczki określane są jako *Coli-mastitis* lub *Coliform-mastitis*.

Zapalenia wymienia u krów spowodowane przez *E. coli* stały się problemem w ciągu ostatnich kilkunastu lat. Niektórzy autorzy zwracają uwagę, że problem ten wydaje się stale narastać (7, 46), czego wyrazem jest także wzrost zainteresowania się tego typu *mastitis* przez wielu badaczy w różnych krajach. Na podkreślenie zasługuje również fakt, iż nowoczesne sposoby zapobiegania zapaleniom wymienia u krów, mające istotne znaczenie w niedopuszczeniu do zakażeń gronkowcowych i paciorkowcowych, nie wpływają na zmniejszenie się odsetka *colimastitis* (11, 29).

Z danych piśmiennictwa wynika, że zapalenie gruczołu mlekowego u krów, wywołane przez *E. coli* lub pałeczki pokrewne stanowiły 6,3%—49% klinicznych postaci *mastitis* (6, 18, 23, 26, 28, 30, 33, 34, 38, 39, 46), zaś w grupie zapaleń ostrych — ciężkich (*mastitis acuta gra-*

*vis*) udział tych drobnoustrojów wynosił 54,9% (41), a nawet 80% (11). Opisano też wiele enzootii *colimastitis* w różnych krajach (7, 11, 16, 21, 23, 24, 32, 34, 38). Wykazano przy tym, iż zapalenia na tle *E. coli* dotyczą najczęściej krów młodych, cechujących się wyższą od przeciętnej wydajnością. Większość *colimastitis* występuje w pierwszych 3 miesiącach po wycieleniu. Najcięższy przebieg obserwuje się jednak w okresie porodu lub bezpośrednio po nim. Procesem chorobowym z reguły zajęta bywa jedna ćwiartka wymienia, a wyjątkowo 2 lub więcej. W ponad 70% są to ćwiartki tylne (11, 13, 21, 24, 26, 30, 34, 37, 40, 42).

Choroba występuje cały rok, z tym jednak, że w pewnych miesiącach obserwowano nasilenie się jej. Niektórzy autorzy (30) częściej stwierdzali *colimastitis* w okresie zimy i wczesnej wiosny, inni zaś (21, 40, 42) w okresie późnego lata. O ile występowanie choroby w miesiącach zimowo-wiosennych dawało się wytłumaczyć niedoborami i związanym z tym osłabieniem odporności organizmu na infekcję, o tyle trudniej jest uzasadnić skłonność krów do *colimastitis* w okresie pełnego pokrycia potrzeb witaminowo-mineralnych pod koniec okresu pastwiskowego.

Objawy kliniczne *mastitis* wywołanego przez pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* są wynikiem zmian miejscowych i ogólnych. Zajęta procesem chorobowym ćwiartka wymienia jest powiększona, zaczerwieniona, gorąca, bolesna i twarda. Wyraźnie obrzękły jest też odpowiedni, nadwymieniowy węzeł chłonny. Wydzielina najczęściej ma charakter surowiczny z obecnością strzępków i kłaczek. Pozostałe ćwiartki wymienia są w tym czasie wiotkie, a wydzielniczość w nich prawie ustaje. Z objawów ogólnych zaś występują: utrata apetytu, brak przżuwania, wzrost ciepłoty wewnętrznej do 41—42°C, przyspieszenie tętna i oddechów, drżenie włókienkowe mięśni, apatia, biegunka, kulawizna po stronie zajętej ćwiartki. W szczególnie ciężkich przypadkach obserwowano na-

wet zalegania i śpiączkę (26, 27, 30, 32, 34, 37, 41).

W przebiegu *colimastitis* gwałtownie powstają nieodwracalne zmiany w gruczole mlekowym i całym organizmie. Stąd też w wypadku nie podjęcia leczenia, a także leczenia niewłaściwie prowadzonego lub zbyt późno rozpoczętego dochodzi do trwałej utraty mleczności w zajętej procesem chorobowym ćwiartce wymienia. Nierzadko, ze względu na ciężkie zaburzenia w ogólnym stanie zdrowia, zachodzi konieczność kierowania chorych zwierząt do uboju. Stwierdzono również zejścia śmiertelne krów (7, 11, 21, 26, 30, 37).

Do zakażenia gruczołu mlekowego krów drobnoustrojami z rodziny *Enterobacteriaceae*, jak się obecnie uważa (10, 30, 39), dochodzi głównie na drodze galaktogennej, a czynnikami sprzyjającymi zakażeniu według różnych autorów są: uwarunkowania genetyczne, niska odporność miejscowa wymienia, osłabienie wymienia wysoką wydajnością, nadmierna objętość i przekrwienie tego narządu, niewłaściwie prowadzony dój ręczny i mechaniczny, niehigieniczne warunki środowiska, przechładzanie wymienia, brak w pożywieniu witamin i soli mineralnych, skarmianie dużych ilości liści buraczanych i odpadów przemysłowych, skarmianie pasz zawierających wysoki poziom fitoestrogenów, leczenie antybiotykami podklinicznych stanów zapalnych wymienia w okresie laktacji, a także zmiany pogody, zmiany ciśnienia i składu powietrza (1, 2, 5, 10, 21, 22, 30, 37, 43).

Pomimo stwierdzeń wielu autorów o środowiskowych uwarunkowaniach występowania *colimastitis*, Walser i wsp. (42) obserwowali 47,4% tych zapaleń w oborach, w których warunki zoohigieniczne uznali za dobre, 31% w warunkach dostatecznych, a tylko 21,6% *mastitis* na tle *E. coli* miało miejsce w oborach o niedostatecznych warunkach higienicznych, przy czym żywienie krów we wszystkich oborach uznano za dobre. Podobne stwierdzenia znaleźć można także w pracach innych autorów (23, 38).

Oprócz czynników środowiskowych, sprzyjających wystąpieniu *colimastitis* na drodze zakażenia galaktogennej, decydujące znaczenie w zapobieganiu infekcji posiada zespół składników obronnych mleka, a szczególnie poziom leukocytów (2, 8, 35). Wykazano bowiem doświadczalnie, że najbardziej podatny był gruczoł mlekowy wtedy, kiedy liczba leukocytów w 1 ml mleka była bardzo niska. Może to sugerować, iż *colimastitis* występuje u krów cechujących się idealnie zdrowym wymieniem. W takim wypadku do zakażenia i wystąpienia objawów choroby wystarczą minimalne ilości komórek bakteryjnych.

Przeprowadzone przez wielu autorów badania doświadczalne (2, 3, 8, 17, 27, 31, 35) pozwoliły na dokładne poznanie przebiegu klinicznego *colimastitis*. Pierwszymi objawami, występującymi już po 1—2 godzinach od dowymienio-

wego wprowadzenia żywych bakterii lub endotoksyny *E. coli* są: lekki obrzęk i niewielka bolesność doświadczalnych ćwiartek. Pojawiają się też surowicze wycieki z nosa i oczu, niepokój i drżenie włókienkowe mięśni. Po 2—4 godzinach od zakażenia rozpoczyna się wzrost ciepłoty wewnętrznej, tętna i oddechów, a zwierzęta tracą apetyt. Nasila się w tym czasie obrzęk i bolesność chorych ćwiartek. Pomiędzy 5 a 8 godziną od wymienionego wprowadzenia szczepów lub endotoksyny *E. coli* najsilniej wyrażone są objawy ogólne *colimastitis*. Ciepłota wewnętrzna przekracza wtedy 41°C, dochodząc nawet do 42 stopni, tętno wzrasta do ponad 120 uderzeń na minutę, a liczba oddechów wynosi 40 i więcej. Zwierzęta całkowicie tracą apetyt, brak jest odbijania i przeżuwania. Występuje też posmutnienie, zgarbienie, nastroszenie włosa, rozszerzenie źrenic, łzotok, ślinotok, surowiczy wypływ z nosa, biegunka, częstomocz. Drżenie włókienkowe mięśni i kulawizna. Doświadczalne ćwiartki wymienia są w tym czasie silnie obrzękłe, twarde, a skóra napięta, zaczerwieniona i nieprzesuwalna. Zmiany w mleku są jednak jeszcze nieznaczne i polegają na zmianie barwy (żółtawo-szara) oraz pojawieniu się strzępków ściętej kazeiny. W kolejnych godzinach opisane wyżej objawy ogólne zaczynają samoistnie ustępować. Z reguły po 10—12, a niekiedy po 18 godzinach od zakażenia ciepłota wewnętrzna obniża się do granic fizjologicznych i zwierzęta odzyskują apetyt. U niektórych sztuk jednak takie objawy, jak: brak apetytu, apatia, biegunka, szybkie tętno i oddechy utrzymują się w dalszym ciągu, mimo spadku temperatury.

Po ustąpieniu charakterystycznych objawów ogólnych, *colimastitis* w dalszym przebiegu dotyczy gruczołu mlekowego. W objętych stanem zapalnym ćwiartkach utrzymują się objawy typowe dla nadostrego procesu, przy czym dopiero w tym czasie wydzielina ulega wyraźnym zmianom. Pomiędzy 12 a 18 godziną od zakażenia staje się silnie wodnista, a następnie przechodzi w surowiczą z obecnością strzępków, kłaczków, a nawet odlewów włókienka. W wydzielinie zapalnej może występować też domieszka krwinek czerwonych. Ilość wydzieliny ogranicza się do kilkunastu ml. Mleko w nie objętych procesem chorobowym ćwiartkach nie zmienia swego charakteru, ale ilość jego spada do kilkudziesięciu ml dziennie.

Zmiany zapalne w wymieniu, typowe dla procesu ostrego, ustępują stopniowo w ciągu 4—10 dni. Wydzielina z doświadczalnych ćwiartek swoim wyglądem przypomina mleko najczęściej dopiero po 10—14 dniach, przy czym ilość jej jest wyraźnie ograniczona. W tym też mniej więcej czasie powraca do normy mleczność w pozostałych, niezakażonych ćwiartkach wymienia.

Przechorowanie zapalenia wymienia, wywołanego w warunkach doświadczalnych małymi dawkami endotoksyny, nie pozostawiało w ob-

rębie gruczołu żądnych, klinicznie uchwytnych zmian pozapalnych. Silnie wyrażone zmiany pozapalne stwierdzano natomiast w ćwiartkach, w których *colimastitis* spowodowano infekcją żywych drobnoustrojów. Cwiartki te cechowały się zbitą, twardą konsystencją i były wyraźnie powiększone. Z reguły po jednorazowym zakażeniu i samoistnym ustąpieniu objawów choroby nie notowano nawrotów.

Leczenie *colimastitis* może dać pozytywne efekty, tj. likwidację drobnoustrojów i objawów oraz pełną rehabilitację tylko w przypadku szybkiego zastosowania odpowiednich zabiegów. Z pracy Walsera i wsp. (44), a także innych autorów (21, 30) wynika bowiem, że czas trwania tej choroby decyduje o narastaniu miejscowych i ogólnych zmian. Jeśli do leczenia przystąpiono w 6 godzin od zauważenia pierwszych objawów choroby, efekt leczniczy uzyskano w ponad 85% przypadków, jeśli zaś po upływie 24 godzin, pełne wyleczenie uzyskiwano jedynie w 30—40% przypadków. Stwierdzić przy tym należy, że oprócz czasu trwania reakcji zapalnej, o natężeniu zmian w gruczole mlekowym i organizmie krów decydują także niektóre cechy drobnoustrojów. Wskazują na to własne doświadczenia kliniczne, z których wynika, iż w przypadku, kiedy przyczyną *colimastitis* były szczepy hemolityczne, przebieg choroby był o wiele cięższy, a leczenie trudniejsze niż w przypadkach, gdy wyosobnione z wydzieliną zapalną szczepy *E. coli* nie posiadały tej cechy.

Na terapię *colimastitis* składa się miejscowe i ogólne stosowanie leków oraz zabiegów. W leczeniu miejscowym podstawowe znaczenie ma docysternowe wprowadzanie antybiotyków w postaci roztworów wodnych, zawiesin olejowych lub maści przez okres 3—6 dni w odstępach 12—24 godzinnych (17, 26, 30, 31). Z badań *in vitro* wynika, że najskuteczniejszymi antybiotykami w stosunku do szczepów *E. coli* wywołujących *mastitis* są: detreomycyna i streptomycyna, a także neomycyna, terramycyna i aureomycyna (4, 9, 18, 19, 30). W Klinice Położniczej Instytutu Chorób Niezakaźnych AR w Lublinie od wielu lat stosuje się z powodzeniem 0,4% wodny roztwór detreomycyny mikronizowanej, a jednorazowa dawka tak przygotowanej chloromycetyny na ćwiartkę wymienia wynosi 100 ml. Mimo to, ze względu na występowanie szczepów opornych, jak również wprowadzanie do terapii *mastitis* nowych preparatów, podstawą do wyboru odpowiedniego leku powinny być w każdym przypadku wyniki antybiotykogramu. Dobre efekty przynosi dozafokowe wprowadzanie wraz z antybiotykami glikokortykosteroidów i DMSO (3, 4, 31). Przed dowymienioną infekcją leków należy dołączyć zdoić chorą ćwiartkę, najlepiej po uprzednim, dożylnym podaniu oksycyny (30). Można też przed zdojeniem wprowadzać docysternowo roztwór dwuwęglanu sodu w celu lepszego usunięcia złożeń włókniaka i toksyn

(21). Jako leczenie uzupełniające stosuje się blokadę nowokainową nerwów wymienia, roztwory DMSO zewnętrznie, zimne okłady w ostrej fazie oraz maści poprawiające krążenie i resorpcję w późniejszym okresie choroby (21, 45, 46).

W leczeniu ogólnym należy uwzględnić antybiotyki, glukozę, preparaty wapniowe i fosforowe, kofeinę, witaminę C, a także środki antyhistaminowe, moczopędne i przeczyszczające (13, 21, 26, 30, 31). Postępowanie takie ma na celu walkę z infekcją i toksemią. W szczególnie ciężkich przypadkach dobre wyniki przynosiło dożylnie wprowadzanie wraz z glukozą i innymi lekami izotonicznego roztworu elektrolitów w ilości 10 litrów na krowę dziennie (30).

#### Piśmiennictwo

1. Bramley A. J., Neave F. K.: Br. vet. J. 131, 160, 1975.
2. Bramley A. J.: J. Dairy Res. 43, 205, 1976.
3. Carroll E. J., Lasmanis J., Jain N. C., Schalm O. W.: Am. J. vet. Res. 35, 781, 1974.
4. Ficarella R., Vezzani E.: Atti Soc. ital. Sci. Vet. 2, 443, 1970.
5. Frank N. A., Sauger U. L., Pounden W. D.: J. Am. vet. med. Ass. 150, 503, 1976.
6. Hertel H. U.: Tierärztl. Umsch. 30, 447, 1975.
7. Howell D.: Vet. Rec. 90, 654, 1972.
8. Jain N. C., Schalm O. W., Lasmanis J.: Am. J. vet. Res. 32, 1929, 1971.
9. Janickova L.: Veterinarství 21, 164, 1971.
10. Jasper D. E., Dellinger J. D.: Cornell Vet. 65, 380, 1975.
11. Jasper D. E., Dellinger J. D., Bushnell R. B.: J. Am. vet. med. Ass. 166, 778, 1975.
12. Katona F., Chorvat D.: Issledovanija metodov borby s mastitami u korov. Bydgoszcz, 1974.
13. Kohz E.: Tierärztl. Umsch. 26, 536, 1971.
14. Kowalczyk St., Zaboltecki K., Krzyżowskiński W.: Z. Probl. Post. Nauk Roln. 124, 281, 1971.
15. Kowats J.: Mh. Vet.-Med. 29, 336, 1974.
16. Kral J., Bastar M., Mukarovsky L., Celerin A.: Veterinarství 18, 23, 1968.
17. Krzyżanowski J.: Annl. Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. DD 17, 283, 1962.
18. Krzyżanowski J., Cempel T.: Medycyna Wet. 21, 26, 1965.
19. Krzyżanowski J., Malinowski E., Drewnowski F., Wrona Z.: Medycyna Wet. 30, 538, 1974.
20. Krzyżanowski J., Malinowski E., Wrona Z., Wawron W., Murawski J.: Medycyna Wet. 35, 623, 1979.
21. Kudelka E., Holec J.: Veterinarství 10, 409, 1960.
22. Kurek Cz., Jankowski J., Preis E.: Medycyna Wet. 28, 138, 1972.
23. Lotan E.: Refuah vet. 27, 101, 1970.
24. McDonald T. J., McDonald J. S., Rose D. L.: Am. J. vet. Res. 31, 1937, 1970.
25. Malinowski E., Ciosek D.: Medycyna Wet. 31, 401, 1975.
26. Osinga A., Meyer P., Dijkstra R. S.: Tijdschr. Diergeneesk. 101, 548, 1976.
27. Paape M. J., Schultze W. J., Desjardins C., Miller R. H.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 145, 553, 1974.
28. Panizo C. G., Montana F. P., Partida G. P.: XXI World Veterinary Congress, Moskwa 1979, 5, 108.
29. Pearson J. K., Greer D. O., Poole N., Gordon F. J., Acheson M. D.: Vet. Rec. 96, 423, 1975.
30. Radostits O. M.: Can. vet. J. 2, 401, 1961.
31. Said A. H.: Tijdschr. Diergeneesk. 98, 387, 1973.
32. Salajka E.: Zentbl. VetMed. 15, 607, 1968.
33. Samborski Z.: Medycyna Wet. 29, 321, 1973.
34. Samborski Z.: Medycyna Wet. 25, 449, 1969.
35. Schalm O. W., Lasmanis J., Carroll E. J.: Am. J. vet. Res. 25, 83, 1964.
36. Schalm O. W., Carroll E. J., Jain N. C.: Bovine mastitis. Lea and Febiger, Philadelphia, 1971.
37. Scheel A.: Wien tierärztl. Mschr. 55, 94, 1968.
38. Seran-Roseunzuag A., Cohen E.: Refuah vet. 29, 117, 1973.
39. Stünzl H.: Schweizer Arch. Tierheilk. 115, 335, 1973.
40. Tarklewicz St., Drewnowski F., Cempel T., Glazer T.: Z. Probl. Post. Nauk Roln. 124, 323, 1971.
41. Walser K., Bieber E., Dannerbeck G., Gronner M., Hropot M., Lankenfeld H., Mayer J., Vergho H., Viktor M.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 85, 228, 1972.
42. Walser K., Bieber E., Dannerbeck G., Gronner M., Hropot M., Lankenfeld H., Mayer J., Vergho H., Viktor M.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 85, 305, 1972.
43. Walser K., Bieber E., Dannerbeck G., Gronner M., Hropot M., Lankenfeld H., Mayer J., Vergho H., Viktor M.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 85, 330, 1972.
44. Walser K., Bieber E., Dannerbeck G., Gronner M., Hropot M., Lankenfeld H., Mayer J., Vergho H., Viktor M.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 85, 364, 1972.
45. Ziv G.: Refuah vet. 24, 244, 1967.
46. Zvereva G. V.: Veterinarija, Moskwa 56, 49, 1979.

Adres autora: dr Edward Malinowski, ul. P. Wołodyjowskiego 3 m. 103, 20-627 Lublin.