

Grażyna Niedziałek, Aneta Frankowska, Łukasz Karwowski ©
Katedra Hodowli Bydła i Oceny Mleka, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w
Siedlcach

Stepan Kostiuk

Badawczy Instytut Fiziologii i Ekoimmunologii Zwierząt i Ptarow Uniwersytetu
Medycyny Weterynaryjnej i Biotechnologii we Lwowie

PROBLEMY MASTITIS U KRÓW Z REGIONU PÓŁNOCNO- WSCHODNIEJ POLSKI

Streszczenie. Celem pracy była jakościowa i ilościowa analiza patogenów wywołujących mastitis u krów. W okresie 2005-2009 przebadanych zostało w powiecie łomżyńskim ogółem 17610 próbek mleka krowiego. Największą liczbę próbek przebadano w roku 2009 (25,4%), najmniejszą w 2007 (15,8%). Liczba próbek, w których wykryto drobnoustroje patogenne wynosiła 12849 (73%) i przewyższała liczbę 4761 (27%) próbek ujemnych stwierdzonych. Liczba dodatnich próbek wykazuje, iż leczenie mastitis w Polsce jest wysoce nieskuteczne w związku z wciąż utrzymującą się wysoką liczbą zakażeń gruczolu mlekowego u bydła mlecznego.

Słowa kluczowe: bydło, mastitis

Wstęp. Mastitis definiowane jako zapalenie gruczolu mlekowego wymienia spowodowane bakteriami, grzybami, mykoplazmami, wirusami lub algami. Nazwa pochodzi od greckich słów *mastos* (piersi) oraz *istis* (zapalenie) (Piekut 2007). Mastitis to kompleks chorobowy, którego skutkiem jest ograniczenie syntezy mleka oraz zmiany w jego składzie. Wartość dietetyczna i przydatność technologiczna takiego mleka ulegają znacznemu pogorszeniu (Smith 2002). Wymię krowy składa się z czterech ćwiartek; każda ćwiartka może ulegać zakażeniu niezależnie od innych [Gill 2006]. Przebieg zapalenia może być łagodny lub gwałtowny. Czas trwania mastitis zależy od stanu zdrowia krowy oraz od rodzaju atakującego drobnoustroju. Leczenie mastitis jest procesem długotrwałym i w wielu przypadkach trudnym do osiągnięcia jest cel pełnego wyeliminowania choroby. Pod względem etiologii zapalenia przebiegać mogą objawowo mastitis kliniczne lub też bezobjawowo mastitis podkliniczne. Zapalenia kliniczne są dużo łatwiejsze do wykrycia. Charakteryzują się widocznymi zmianami w samym gruczole (zaczernienie, obrzęk, bolesność) jak i w mleku (inna barwa, konsystencja, smak). Są zazwyczaj szybko wykrywane i łatwiejsze do wyleczenia, a zastosowane leczenie jest adekwatne do rodzaju patogenu atakującego gruczol (Swartz 2003). Zapalenie podkliniczne charakteryzuje się brakiem widocznych zmian w gruczole i mleku. Posiada ono długotrwały przewlekły charakter, jest trudne do wykrycia i wyleczenia. Diagnozowanie odbywa się tu dzięki specjalnym testom i badaniom w kierunku wykrycia mikroorganizmów (Swartz 2003). Mastitis powoduje w mleku krów spadek zawartości kazeiny, laktozy, tłuszczu, alfablobulin, betaglobulin, witamin, cytrynianów, wapnia, fosforu, potasu, magnezu, krzemu i seleniu. Wzrasta natomiast

pH mleka. Powoduje to drastyczny spadek jakości mleka, a tym samym uniemożliwia wykorzystanie go do produkcji produktów mleczarskich.

Oporność na antybiotyki patogenów wywołujących *mastitis* jest dobrze udokumentowana u krów mlecznych. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) stwierdziła, że każde użycie antybiotyków jest związane z ryzykiem wywołania oporności na antybiotyki wśród bakterii. Różnice regionalne w kierunkach odporności patogenów istnieją na całym świecie. Jednak związek między opornością patogenów wywołujących *mastitis* i intensywnością chowu zwierząt, nie może zostać osiągnięty [Tenhagen 2006]. Rosnące obawy wokół odporności na antybiotyki zachęciły do stworzenia alternatywnych metod leczenia *mastitis*.

S. aureus jest jedną z najbardziej rozpowszechnionych bakterii wywołujących *mastitis* i jest odpowiedzialna za ok. 25-30% wszystkich infekcji wewnątrzwymieniowych. *Mastitis* powodowane przez *S. aureus* jest uważany za zakaźny patogen *mastitis*, ponieważ powszechnie rozprzestrzenia się z zakażonych do niezakażonych krów podczas udoju. Mimo że głównym rezerwuarem tych bakterii jest zainfekowane wymię, *S. aureus* zostały wyizolowane z całej powierzchni krów i mogą być rozpowszechniane przez opiekunów zwierząt, którzy są nosicielami tego patogenu (Bannerman 2005). Wśród patogenów *mastitis*, *S. aureus* jest uważany za czynnik związany z poważnymi konsekwencjami, ze względu na niski wskaźnik wyleczenia zakażeń *S. aureus* antybiotykami i jego zdolności do przetrwania w stadach w formie niewykrytej, w zakażeniach subklinicznych. W terapii podczas laktacji w stosunku do zakażeń gronkowcem złocistym, ilość wyleczeń bakteriologicznych wynosi od 9% do 35%. Wyższa ilość wyleczeń w wysokości do 80% odnotowana została w terapii *S. aureus* IMI podczas zasuszenia. Oporność na antybiotyki u *S. aureus* jest także związana z rosnącym ogólnym wskaźnikiem oporności bydłęcych *S. aureus* w próbkach wyizolowanych z różnych szerokości geograficznych i regionów. Ludzkie kliniczne izolaty *S. aureus* są również bardziej odporne na antybiotyki. Dalsze powstawanie szpitalnych i pozaszpitalnych szczepów opornych na metycylinę *S. aureus* (MRSA) u ludzi oraz MRSA w rolnictwie zwierząt sygnalizuje potrzebę opracowania nowych antybiotykowych terapii związanych z tym patogenem. Leczenie zakażeń bakteryjnych z użyciem bakteriofagów, zwane terapią fagową, jest jedną z takich opcji (Gill 2006). *S. aureus* powoduje około 10 przypadków klinicznych *mastitis*/100 krów rocznie w Wielkiej Brytanii, jednak w większości zakażenia są infekcjami podklinicznymi i dlatego nie są wykrywane przez rutynowe badania wymion (Smith 2002). Występowanie *S. aureus* zwiększa się z wiekiem i etapem laktacji (Tenhagen 2006). Wysoka częstość występowania gronkowca złocistego może być związana z szerokim rozprzestrzenieniem tego mikroorganizmu wewnątrz gruczołu mlekowego, na skórze sutków oraz wymienia. Związane może to być również z częstą kolonizacją wymienia przez tą bakterię. Gronkowce przystosowały się do warunków panujących w wymieniu. Zazwyczaj w związku z ich obecnością dochodzi do chronicznych, podklinicznych infekcji ze zmianami w mleku. Mleko jest również źródłem infekcji dla innych zdrowych krów podczas udoju.

Bakterie takie jak *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae* oraz *Str. uberis* stanowią drugi co do częstości infekowania czynnik etiologiczny *mastitis* na farmach. Znacząca różnica pomiędzy częstością występowania chronicznego i podklinicznego

mastitis została zaobserwowana pomiędzy dwoma farmami etiopskimi. Częstość infekcji była tu spowodowana poprzez różnice w zarządzaniu. Mycie wymion i rąk przed udojem oraz poubojowe dezynfekowanie wymion oraz warunki klimatyczne wpływają na częstość infekcji wymienia na wymienionych farmach etiopskich. Retrospektywne analizy danych z farm wskazują iż bydłce *mastitis* było drugim co do ważności czynnikiem usuwania zwierząt (27,2%), jest to znaczącym ekonomicznym problemem na wielu farmach. Badacze prowadzący analizy na farmach w Etiopii donoszą, iż *mastitis* kliniczne powodowane przez bakterie może również szkodzić produktywności krów mlecznych. Dodatkowo unikać się powinno kolejnego udoju zainfekowanych i niezainfekowanych krów. Wczesne wykrycie zapalenia gruczołu mlekowego, testowanie podatności patogenów *mastitis* na antybiotyki przed leczeniem, terapia zasuszonych krów oraz brakowanie krów w przypadku chronicznego *mastitis* są również rekomendowane w celu kontroli i zapobieganiu *mastitis* (Workineh 2002).

Material i metody. Materiał do badań bakteriologicznych stanowiły próbki mleka ćwiartkowego pobierane aseptycznie od krów mlecznych wykazujących objawy zapalenia gruczołu mlekowego. W latach 2005-2009 przebadano 17610 próbek mleka ćwiartkowego od krów pochodzących z województwa podlaskiego. Drobnoustroje izolowano z próbek mleka i identyfikowano zgodnie z metodyką stosowaną w PIWet w Puławach (Malinowski i Kłossowska 2002).

Wyniki. W tabeli 1 zamieszczono analizę ilościową i jakościową drobnoustrojów powodujących *mastitis*. Analiza danych z tabeli 1 wskazuje, iż opisywany okres charakteryzuje się znaczną przewagą próbek zawierających bakterie z grupy *mastitis* 12849 (73%) nad próbami ujemnymi 4761 (27%).

Tabela 1.

Analiza ilościowa i jakościowa drobnoustrojów powodujących *mastitis* na terenie powiatu łomżyńskiego w latach 2005-2009

Rok (year)	Liczba zbadanych próbek (Number of examined samples)	Liczba dodatnich próbek (Number of positive samples)	Liczba ujemnych próbek (Number of negative samples)	Major pathogens	Minor pathogens
2005	3446	2620 (14,9%)	826 (4,7%)	742 (4,2%)	1878 (10,7%)
2006	2968	2267 (12,9%)	701 (4%)	661 (3,7%)	1606 (9,1%)
2007	2780	1981 (11,2%)	799 (4,5%)	507 (2,9%)	1474 (8,4%)
2008	3950	2751 (15,6%)	1199 (6,8%)	717 (4,1%)	2034 (11,5%)
2009	4466	3230 (18,3%)	1236 (7%)	802 (4,5%)	2428 (13,8%)
Razem (sum)	17610 (100%)	12849 (73%)	4761 (27%)	3429 (19,5%)	9420 (53,5%)

Tabela druga zawiera dane dotyczące drobnoustrojów izolowanych z przypadków zapaleń gruczołu mlekowego u krów w powiecie łomżyńskim w latach 2005-2009 z uwzględnieniem podziału na major i minor pathogens.

Drobnoustroje należące do grupy major pathogens stanowią dla człowieka największe zagrożenie spośród patogenów wywołujących *mastitis* [Raport Rolny,

2004]. W okresie 2005-2009 wystąpiły one w 3429 (19,5%) przypadków, minor pathogens natomiast w 9420, co stanowi (53,5%) prób.

Tabela 2.

Drobnoustroje izolowane z przypadków zapaleń gruczołu mlekowego u krów w powiecie łomżyńskim w latach 2005-2009 z uwzględnieniem podziału na major i minor pathogens

Rok (year)	Major pathogens				Minor pathogens						
	<i>Staph. aureus</i>	<i>Strep. agalactiae</i>	<i>Strep. uberis</i>	<i>E. coli</i>	<i>Corynebacterium sp.</i>	<i>Candida sp.</i>	Pozostałe <i>Strep. sp.</i>	Pozostałe <i>Staph. sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	Inne <i>Staph. koagulaz</i>	Inne mikroorganizmy
2005	564	178	-	65	41	39	883	48	-	802	-
2006	546	115	-	40	43	38	741	0	2	742	-
2007	385	85	-	37	38	12	729	-	2	693	-
2008	579	54	-	84	35	31	1151	1	2	812	2
2009	475	85	158	84	56	19	1421	-	2	929	1
Razem (sum)	2549	517	158	310	213	139	4925	49	8	3978	3
Procent (%)	19,8 %	4%	1,2 %	2,4 %	1,6 %	1,1 %	38,3 %	0,4 %	0,06 %	30,9 %	0,02 %

Dane z tabeli 2 wskazują, iż wśród major pathogens w ciągu analizowanych 5 lat dominowały zdecydowanie zakażenia *S. aureus* oraz *Str. agalactiae* odpowiednio 19,8% oraz 4% prób. Natomiast wśród minor pathogens przeważały tzw. „inne” *Streptococcus sp.* (38,3%) oraz „inne” *Staphylococcus sp.* (30,9%), co stanowi (50,5%) całkowitej ilości zakażeń mleka.

Wyniki badań mleka krów z zapaleniem wymienia wykazały, iż najwyższy udział w zakażeniach w latach 2005-2009 miały: „inne” *Streptococcus sp.* 4925 (38,3%), „inne” *Staphylococcus koagulaz*-ujemne sp. 3978 (30,9%), *S. aureus* 2549 (19,8%), *Str. agalactiae* 517 (4%) oraz *E. coli* 310 (2,4%). Najmniejszy zaś odsetek zakażeń wywoływały: pozostałe *Staphylococcus sp.* 49 (0,4%), *Pseudomonas sp.* 8 (0,06%) oraz mikroorganizmy inne 3 (0,02%). Sporadycznie izolowane z próbek mleka były *Aeromonas sp.*, *Proteus sp.*, *Micrococcus sp.* oraz *Str. pneumoniae*.

Wśród drobnoustrojów izolowanych w omawianym okresie pojawiły się również grupy ekspansywnie zasiedlające gruczoł mlekowy, powodujące trudne do wyleczenia przypadki *mastitis*, były to: *Corynebacterium sp.* 213 (1,6%), *Str. uberis* 158 (1,2%) oraz *Candida sp.* 139 (1,1%).

Gronkowce wystąpiły w 6576 przypadkach co stanowiło (37,3%) ogółu prób dodatnich, paciorkowce natomiast w 5600 przypadkach, co stanowi (31,8%) prób.

Skuteczne terapie antybiotykowe oraz poprawa warunków higienicznych polskich gospodarstw mlecznych przyczyniły się do wyeliminowania infekcji gruczołu mlekowego drobnoustrojami *Str. dysgalactiae*, zmniejszenia infekcji *Str. agalactiae* (ze 178 przypadków w 2005 roku do 85 w roku 2009) oraz *Str. uberis*. Niemniej jednak wiele drobnoustrojów świetnie przystosowało się do nowych warunków (np. nowe generacje antybiotyków), na stałym wysokim poziomie wciąż utrzymują się infekcje gatunków *Staphylococcus* koagulazo-ujemnych (929 wyników pozytywnych w roku 2009), *S. aureus* (475 w 2009 roku), czy *E. coli* (84 w 2009 roku). Wciąż na niewielkim, jednak stałym poziomie utrzymują się infekcje spowodowane przez *Corynebacterium* sp., *Candida* sp. oraz *Pseudomonas* sp.

Dyskusja

Wstąpienie Polski do Unii Europejskiej wiąże się z dużo wyższymi normami czystości mleka skierowanego na ogólnie dostępny międzynarodowy rynek przetwórstwa mleczarskiego.

Okolo 30-50% krów mlecznych w Polsce posiada gruczoły mlekowe zakażone bakteriami wywołującymi *mastitis*. u 2-5% takich krów notuje się w postaci klinicznej, u pozostałych występują podkliniczne postaci *mastitis*. Krowy takie tracą około 20% swojej wydajności mlecznej. *Mastitis* to nie tylko problem ekonomiczny, który kosztuje rodzimych rolników kilkaset milionów złotych rocznie, ale zdrowotny i sanitarny (Standardy Jakościowe Mleka Surowego). Mleko i artykuły mleczarskie są głównym źródłem białka dla organizmu człowieka. Konsumpcja mleka w naszym kraju należy do najwyższych w Europie, dlatego też jego jakość higieniczna powinna być sprawą priorytetową dla producentów i przetwórców mleka. Mleko przeznaczone do obrotu musi odpowiadać wysokim parametrom jakości mikrobiologicznej i zdrowotnej (Szlis 2003).

Wyniki badań dotyczących *mastitis* u krów prowadzone przez wielu autorów polskich i zagranicznych wskazują na fakt dużego zróżnicowania czynników etiologicznych wywołujących to schorzenie. Dziekiewicz-Mrugasiewicz [2007] w latach 2001-2003 przebadła 9617 próbek mleka ćwiartkowego pochodzących z mleka krów z regionu Polski północno-wschodniej. W 72,24% badanych próbek mleka stwierdziła obecność patogenów. Wśród bakterii dominowały paciorkowce i gronkowce, wśród których gatunkami wiodącymi były *Str. agalactiae* i *S. aureus*.

Malinowski i wsp. (2003) stwierdzili, że w Polsce około 40-80% krów w skali roku dotkniętych jest *mastitis*. Czupa (2001), Krukowski i wsp. (2001) oraz Jakubczak i wsp. (2001) wykazali, iż częstotliwość *mastitis* (Dziekiewicz-Mrugasiewicz 2007). *Mastitis* pozostaje jedną z najczęstszych i najkosztowniejszych chorób w produkcji bydła mlecznego na całym świecie. W Stanach Zjednoczonych poniesione straty gospodarcze związane z *mastitis* szacuje się na 2 biliony dolarów rocznie (Bannerman 2005). W Stanach Zjednoczonych występowanie *mastitis* w postaci klinicznej występuje w 50% przypadków u krów, w Anglii w 40%, w Izraelu i Kanadzie w ponad 20% natomiast w krajach skandynawskich od 20% do 40%. Finlandia boryka się ze wzrostem zakażeń *mastitis* z 31% do 38%. Znacznie poważniejszym problemem jest jednak *mastitis* podkliniczne mogące dotyczyć nawet 97% krów w stadach (Dziekiewicz-Mrugasiewicz 2007).

Mastitis jest wywoływane głównie przez zakażenie *S. aureus*. Ten gatunek jest najbardziej rozpowszechnioną przyczyną zakażeń gruczołu mlekowego w wielu krajach (Yazdankhah 1999). W Polsce szczepy należące do tego gatunku bakterii zostały izolowane z około 10% próbek mleka od krów z objawami *mastitis*. Naturalna populacja *Staphylococcus* sp. charakteryzuje się stosunkowo dużą zmiennością genetyczną, która ma bezpośredni wpływ na fenotypowe cechy tych bakterii, wśród których najważniejsze to oporność na antybiotyki i możliwość tworzenia toksyn oraz innych czynników wirulencji. Jakubczak i In. (2007) wykazali różnorodności populacji wśród 82 szczepów *S. aureus* izolowanych od krów z *mastitis* na wschodzie Polski. Aerstrup (1995) w grupie 187 szczepów określił 15 różnych genotypów, trzy genotypy stwierdzono w grupie 24 szczepów wyizolowanych z mleka przez Schlegelova (2003). Ogromna różnorodność genotypów oraz fenotypów szczepów *S. aureus* izolowanych z przypadków *mastitis* utrudnia skuteczną antybiotykoterapię. Straty wynikające z występowania *mastitis* u bydła w przemyśle mleczarskim związane są przede wszystkim ze spadku produkcji mleka. Mimo, że metody zarządzania stadem mogą zmniejszyć częstość występowania *mastitis*, wszechobecny charakter patogenów *mastitis* w krowim środowisku wyklucza pełną profilaktykę z dobrym zarządzaniem oborą. Rozwój nowych strategii zapobiegania lub leczenia *mastitis*, powinien być nadal priorytetem dla inicjatyw dotyczących zdrowia zwierząt (Bannerman 2005). Selektywna hodowla, która posiada potencjał do poprawy niektórych cech związanych z produkcją, ma ograniczone zastosowanie w zapobieganiu *mastitis*. Tak więc, w obecnych warunkach infekcje wewnątrz-wymieniowe i rozwój *mastitis* są nadal nieuniknione, powinno to skłonić rolników do stosowania wysoko rozumianej profilaktyki, ze szczególnym uwzględnieniem higieny w oborach.

Wnioski

Mastitis jest narastającym problemem ekonomiczno-społecznym na całym świecie. Na szczególną uwagę zasługują przypadki zapalenia gruczołu mlekowego powodowane przez *Staphylococcus aureus* oraz *Streptococcus agalactiae*. Prawdopodobną przyczyną ciągłego występowania w gruczole mlekowym patogenów *mastitis* jest nieprzemysłana antybiotykoterapia krów, stosowana bez uprzednich testów podatności zwierząt na farmaceutyki. Nieskuteczne leczenie *mastitis*, powinno również skłonić rolników do stosowania wysoko rozumianej profilaktyki, ze szczególnym uwzględnieniem higieny w oborach.