

BADANIA NAD WYSTĘPOWANIEM
DROBNOUSTROJÓW RODZAJU *CORYNEBACTERIUM* (C)
W GRUCZOŁACH MLECZNYCH KRÓW

VI. ZAKAŻENIA BEZOBJAWOWE A BARIERA KOMÓRKOWA WYMIENIA

Czesław Kurek

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku

Obecność 200-500 tys. komórek somatycznych w 1 ml mleka zatokowego stanowi barierę zabezpieczającą gruczoł mleczny krowy przed zakażeniem doświadczalnym drobnoustrojami grupy *Coli-Aerogenes*, paciorkowcami bezmleczności i gronkowcami [14, 18-21]. Niski poziom leukocytów w mleku krów o wymieniu wolnym od *mastitis*, który nie przekracza zwykle 100 tys. komórek w 1 ml wydzieliny gruczołowej, predysponuje do zakażeń bakteryjnych [21]. Stymulatory biologiczne, które wpływałyby na optymalny poziom komórek w wydzielinie gruczołowej i zabezpieczały wymię przed zakażeniem chorobotwórczą florą bakteryjną nie powodując dodatniego odczynu komórkowego — są nieznane.

Z badań własnych wynika, że istnieją stada krów mlecznych, u których mimo nieodpowiednich warunków higienicznych, przypadki kliniczne *mastitis* notowane są bardzo rzadko. U krów takich stwierdzano wysokie odsetki bezobjawowych zakażeń bakteryjnych wymienia, obejmujące nawet 80% ćwiartek gruczołowych, wywołane przez *C. bovis* i inne gatunki rodzaju *Corynebacterium*, często taksonomicznie nie oznaczone [6, 7, 9, 10].

Celem badań było określenie poziomu komórek somatycznych w mleku krów stada produkcyjnego K, u których zakażenia bezobjawowe ćwiartek gruczołowych drobnoustrojami rodzaju *Corynebacterium* wahały się okresowo od 27 do 65,8%, indeks Drury-Reeda w okresie 18 miesięcy badań był niski i wynosił 0,75-1,95 ($\bar{y} = 1,25$), podkliniczne postaci *mastitis* wywoływane przez paciorkowce i gronkowce nie przekraczały 10%, zaś kliniczne 0,6% [6, 10].

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 80 krowach stada produkcyjnego K, rasy ncb, w wieku 4-11 lat, wolnych od gruźlicy i brucelozy. W okresie 300 dni przebadano łącznie 1318 próbek mleka zatokowego metodą bezpośredniego liczenia komórek wg Prescott-Breeda [16] w modyfikacji własnej [5], pobierając materiał co 2 miesiące. Badania bakteriologiczne przeprowadzono wg techniki rutynowej na agarze z krwią i podłożu Edwardsa, a TOK wykonywano przy zastosowaniu odczynnika Mastirapid „Biowet” produkcji krajowej [26] wg interpretacji Schalma i Norlandera [17]. Drobnoustroje rodzaju *Corynebacterium* identyfikowano wg Kielsteina i Kotschego [12].

WYNIKI BADAŃ I OMÓWIENIE

W badanym stadzie K izolowano z mleka 152 szczepy rodzaju *Corynebacterium*, z których 42 zaliczono do *C. bovis*, 110 do gatunku oznaczonego tymczasowo jako *C. uberis* [7, 8], a 36 szczepów nie oznaczono. *C. uberis* w odróżnieniu od *C. bovis* redukował azotany do azotynów i nie hydrolizował mocznika, która to właściwość biochemiczna zdaje się być cechą zmienną zarówno w warunkach posiewów laboratoryjnych jak i zakażeniach naturalnych [11]. Żaden ze szczepów nie zmieniał mleka lakmusowego.

Z tabeli wynika, że spośród 830 prób o ujemnym TOK, pochodzących z gruczołów mlecznych zakażonych maczugowcami, średnia ilość komórek w 1 ml mleka wynosiła 281 tys., zaś w 335 próbach wolnych od zakażeń 212 tys. przy $P < 0,01$. W grupie 153 prób o dodatnim TOK wydzielina gruczołów mlecznych zakażonych maczugowcami zawierała ponad 1,208 tys. komórek w 1 ml i była o 255 tys. wyższa aniżeli w przypadkach aseptycznych stanów zapalnych, przy $P < 0,01$. Oznacza to, że bezobjawowe zakażenia gruczołów mlecznych drobnoustrojami rodzaju *Corynebacterium* stymulowały barierę komórkową wymienia na poziomie wyż-

Tabela

Zakażenia bakteryjne ćwiartek wymieniowych krów stada K a ilość komórek w 1 ml mleka z dodatnim i ujemnym odczynem TOK (CMT)

Krów	Badań co 60 dni	TOK (CMT) —				TOK (CMT) +			
		zakażenia		brak zakażeń		zakażenia		brak zakażeń	
		<i>C. bovis</i> i <i>C. uberis</i>		bakteryjnych		<i>C. bovis</i> i <i>C. uberis</i>		bakteryjnych	
	<i>n</i>	\bar{y}	<i>n</i>	\bar{y}	<i>n</i>	\bar{y}	<i>n</i>	\bar{y}	
		830	281.578	335	212.746	118	1.208.814	35	953.714
80	5	$P < 0,05$ $F_{0,05} = 1,16 > F^{\circ} = 0,04$ $P < 0,01$ $t_{0,01} = 2,61 < t^{\circ} = 10,8$				$P < 0,05$ $F_{0,05} = 1,63 > F^{\circ} = 1,02$ $P < 0,01$ $t_{0,01} = 2,61 < t^{\circ} = 2,85$			

szym o blisko 70 tys. komórek w 1 ml mleka, a właściwość ta była statystycznie znamienna. Jak wynika z badań, stymulacja ta powodowała 14,2% dodatnich TOK, w innych zaś — nawet 20,9% [6]. Stawicki [25] obserwował analogiczne zjawisko, a odsetek dodatnich TOK w badanym przez niego stadzie w okresie 18 miesięcy, wahał się od 4,9 do 16,8%. Zdaniem Bourlandera i wsp. [2] wynika ono z aktywizującego działania hormonów płciowych. Odsetek tych odczynów jest jednak stosunkowo nieduży, co wyrażone zostało niskim indeksem Drury-Reeda, który w stadzie K wynosił 0,75-1,04, z wyjątkiem okresu, w którym wystąpiły 3 kliniczne postaci *mastitis* i kiedy wahał się od 1,38 do 1,95. Zakażenia maczugowcami nie miały również ujemnego wpływu na produkcję mleka, która w grupie krów w wieku 9-11 lat wynosiła rocznie 3315 litrów, a eksploatacja mleczna była znacznie dłuższa aniżeli w stadach zakażonych paciorkowcami i gronkowcami [25].

Inne badania zdają się również potwierdzać korzystny wpływ stymulacji bariery komórkowej wymienia zachodzącej pod wpływem bezobjawowych zakażeń maczugowcami. Wskazują na to wyniki badań 1080 krów w 10 stadach produkcyjnych badanych co 30 dni przez okres 5 miesięcy. Tylko w jednym stadzie, w którym 84% ćwiartek wymieniowych było zakażonych *C. bovis*, indeks Drury-Reeda wynosił 0,97, a w pozostałych 1,35-3,04 przy $P < 0,01$. Również ilość nieczynnych ćwiartek gruczołowych była niska i wynosiła 0,27%, podczas gdy analogiczne wartości w pozostałych 9 stadach wahały się od 0,61 do 3,01% przy $P < 0,01$ [8]. Wykazano również, że bezobjawowe zakażenia gruczołów mlecznych *C. bovis* działały stabilizująco w sposób statystycznie znamienny na większą gęstość mleka, co odniesiono do lepszej zdrowotności wymienia [10].

Z badań tych zdaje się wynikać, że zakażenia bezobjawowe gruczołów mlecznych krów drobnoustrojami rodzaju *Corynebacterium* nie jest — jak uważają niektórzy badacze [2, 13, 15, 23] — przejawem zwykłego tylko komensalizmu. Ponieważ bariera leukocytna wytworzona pod wpływem jednego czynnika bakteryjnego chroni gruczoł przed nadkażeniem inną florą bakteryjną [18, 22] można przyjąć, że bezobjawowe zakażenie gruczołu mlecznego krowy drobnoustrojami rodzaju *Corynebacterium* stanowi nieznany dotychczas przejaw adaptacyjny tego narządu wobec nieodpowiednich warunków środowiskowych. Z badań zdaje się również wynikać, że maczugowce posiadają nie tylko właściwości stymulowania bariery leukocytarnej, ale prawdopodobnie wpływają też na nieswoistą oporność narządową typu lokalnego. Wskazują na to właściwości innych gatunków tego rodzaju jak *C. parvum* i *C. acnes* stymulujących u.s.ś. skóry i narządów mięsaszowych [3, 24], oraz zjawisko oporności jamy otrzewnowej myszki inokulowanej *C. bovis* i nadkażanej *P. multocida* [4]. Nie wydaje się również, aby ochronna rola maczugowców wobec wymie-

nia krowy odnosiła się wyłącznie do zakażenia kanałów strzykowych, co sugerują Black i Bourland [1]. Drobnoustroje te stwierdzone są bowiem również w mleku pęcherzykowym [6, 8], a z dotychczasowych obserwacji wynika, że zjawisko lokalnej oporności narządowej wymienia jest złożone i mało poznane.

WNIOSKI

Bezobjawowe zakażenie gruczołów mlecznych krowy drobnoustrojami rodzaju *Corynebacterium* o określonych właściwościach biochemicznych nie jest przejawem komensalizmu bakteryjnego, bowiem wpływa stymulująco na barierę komórkową wymienia i zwiększa jego odporność naturalną. Odsetek dodatnich TOK jest nieznaczny, a odczyny przebiegają z reguły w postaci zapaleń podklinicznych.

PISMIENNICTWO

1. Black R. T., Bourland C. T.: J. Dairy Sci. 55, 7, 1016, 1972.
2. Bourland C. T., Marschall R. T., Hindery G. A., Turner C. W.: J. Dairy Sci. 50, 60, 978, 1961.
3. Farber P. A., Glasgow L. A.: Infection and Immunity. 6, 3, 272, 1972.
4. Hard G. C.: Res. vet. Sci. 10, 6, 547, 1969.
5. Kurek C., Karpińska K.: Medycyna Wet. 6, 331, 1969.
6. Kurek C.: Medycyna Wet. 29, 164, 1973.
7. Kurek C.: Pol. Arch. Wet. 17, 2, 253, 1974.
8. Kurek C.: Badania nad występowaniem drobnoustrojów rodzaju *Corynebacterium* w gruczołach mlecznych krów. III. Właściwości fermentacyjne i hemaglutynacyjne oraz chorobotwórczość *C. uberis*. Pol. Arch. Wet. (w druku).
9. Kurek C.: Badania nad występowaniem drobnoustrojów rodzaju *Corynebacterium* w gruczołach mlecznych krów. IV. Zakażenia bezobjawowe a mastitis w stanach produkcyjnych. V Zjazd PTNW w Olsztynie 12-15. 9. 1974.
10. Kurek C.: Badania nad występowaniem drobnoustrojów rodzaju *Corynebacterium* w gruczołach mlecznych krów. V. Zakażenia bezobjawowe *C. bovis* a ciężar właściwy mleka. V Zjazd PTNW w Olsztynie 12-15. 9. 1974.
11. Kurek C.: dane niepublikowane, 1974.
12. Linsert H., Schimmel D., Kielstein P.: Arbeitsmethoden des Laboratoriums in de Veterinarmedizin. Mappe 1, 2. Hirzel Verlag Leipzig, 1970.
13. Munch-Petersen E.: Milchwissenschaft. 26, 288, 1971.
14. Newbould F. H. S., Neave F. K.: J. Dairy Res. 32, 163, 1965.
15. Philpot W. N.: J. Dairy Sci. 52, 5, 708, 1969.
16. Prescott S. G., Breed R. S.: J. Infect. Dis. 7, 632, 1910.
17. Schalm O. W., Norlander D. O.: J. Am. vet. Med. As. 130, 199, 1957.
18. Schalm O. W., Lasmanis J., Carroll E. J.: Am. J. vet. Res. 25, 83, 1964.
19. Schalm O. W., Carroll E. J., Lasmanis J.: Am. J. vet. Res. 25, 104, 90, 1964.
20. Schalm O. W., Lasmanis J., Carroll E. J.: Am. J. vet. Res. 27, 121, 1537, 1966.
21. Schalm O. W., Lasmanis J.: J. Am. vet. Med. Ass. 153, 12, 1688, 1966.

22. Schalm O. W., Lasmanis J., Carroll E. J.: Am. J. vet. Res. 28, 685, 1967.
23. Schalm O. W., Carroll E. J., Jain N. C.: Bovine Mastitis, Lea-Febiger Philadelphia, 1971.
24. Scott M. T.: Cellular Immunology. 5, 469, 1972.
25. Stawicki W.: Dynamika zakażeń gruczołów mlecznych krów hodowli wielkostatnej drobnoustrojami rodzaju *Corynebacterium* i wpływ na powstawanie mastitis. Praca doktorska (maszynopis). V Zjazd PTNW w Olsztynie 12-15. 9. 1974.
26. Wiśniowski J., Grajewski H.: Bull. vet. Inst. Puławy, 9, 3, 84, 1965.

Ч. Курек

ПОЯВЛЕНИЕ КОРИНЕБАКТЕРИЙ *CORYNEBACTERIUM* SP. (C)
В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КОРОВ

VI. СУБКЛИНИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ И КЛЕТОЧНЫЙ БАРЬЕР МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме

Целью исследований было определение уровня клеток в 1 мл пазушного молока в стаде 80 коров, четверти вымени коровых были в 65,8% бессимптомно заражены *C. bovis* и видом идентифицированным предварительно как *C. uberis*. Молочная железа у коров стада была в хорошем состоянии здоровья, а период лактации был продлен до 11-летнего возраста, несмотря на несоблюдения принципов профилактики мастита. В период 300 дней исследовали 1313 образцов по методу Прескотт-Брида, причем установлено, что в молоке зараженном коринебактериями с отрицательным СМТ среднее число клеток составляло 281 тыс. и было выше на 70 тыс., чем в образцах незараженных этими микроорганизмами, при $P < 0,01$. Процент положительных СМТ в образцах зараженных коринебактериями с субклиническим ходом составлял 14,2%, а число клеток в 1 мл молока составляло 1,208 тыс. и было на 255 тыс. выше, чем в асептических маститах, при $P < 0,01$. На основании результатов исследований можно, как кажется, заключать, что бессимптомная инфекция вымени коринебактериями была бы проявлением приспособления молочной железы коровы к неблагоприятным условиям среды, а стимулируемый таким образом лейкоцитный барьер вымени охраняет железу от надинфекции патогенной бактериальной флорой вызывающей мастит.

C. Kurek

OCCURRENCE OF *CORYNEBACTERIUM* SP. (C) IN THE UDDER OF COWS

VI. SUBCLINICAL INFECTIONS AND THE CELL BARRIER OF THE MAMMARY GLAND

Summary

The aim of the respective investigations was to determine the level of cells in 1 ml of sinuate milk in the population of 80 cows, the udder quarters of which were in 15.8% infected symptomlessly with *C. bovis* and with the species identi-

fied preliminarily as *C. uberis*. In the population the health state of mammary gland was very good one and the lactation period was prolonged to 11th year of age, although the mastitis prophylaxy principles were not observed at all. In the 300-day period 1318 samples were examined at application of the Prescott-Breed method, at which it appeared that in the milk infected with *Corynebacterium* sp. with a negative CMT, average number of cells amounted to 281 thousand, being by 70 thousand higher than in samplex non-infected with these microorganisms, at $P < 0.01$. The per cent of positive CMT in the *Corynebacteria* — infected samples with the subclinical course amounted to 14.2%, while the number of cells in 1 ml of milk amounted to 1208 thousand, being by 255 thousand higher than in aseptical inflammations, at $P < 0.01$. The investigations seem to prove that the symptomless infection of the udder with *Corynebacteria* would be an indication of an adaptation of the mammary gland of cows to unfavourable environmental conditions and the leucicytic barrier stimulated in such a way would protect the gland against superinfection with the pathogenic bacterial flora causing *mastitis*.