

## Characteristics of cows mastitis caused by human foodborne pathogens

Malinowski E.<sup>1,2</sup>, Gajewski Z.<sup>2</sup>, Department of Pathophysiology of Reproduction and Mammary Gland, National Veterinary Research Institute Puławy, Division Bydgoszcz<sup>1</sup> and Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW<sup>2</sup>

Numerous microorganisms causing mastitis in cows are detrimental and dangerous for humans. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Campylobacter jejuni*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Salmonella* Enteritidis, *Yersinia enterocolitica*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, and *Prototheca* spp. are among the frequent milkborne pathogens. Milk can also be the source of *Mycobacterium paratuberculosis* and *Coxiella burnetii*. Most common are subclinical and chronic inflammations elicited by *S. aureus* that harbors genes for several enterotoxins and TSST-1 as virulence factors and clinical mastitis caused by *E. coli* harboring genes for Shiga toxin. Raw, non-pasteurized milk and dairy products made from mastitic milk may cause foodborne diseases, infections and/or intoxications. The aim of this paper was to present hazards brought by contaminated milk and dairy products for public health. Prophylactic measurements, accurate diagnosis and carefully performed treatment of mastitis, stringent hygienic measures for milking and rigorous observance of procedures, can enable obtaining milk and dairy products of highest quality. This is absolutely essential to reduce the existing threat of foodborne diseases outbreaks in humans.

**Keywords:** milkborne pathogens, mastitis, milk safety.

W roli czynników etiologicznych *mastitis* występuje około 150 gatunków drobnoustrojów (1), z których ponad 100 wyizolowano w Polsce (2). Rolę dominującą w wywoływaniu zapaleń wymienia mają gronkowce złociste i koagulazo-ujemne, paciorkowce bezmleczności i środowiskowe, *E. coli* i inne *coli*-podobne oraz *Corynebacterium bovis* (3, 4, 5, 6). Wśród drobnoustrojów, które wywołują *mastitis* u krów, znajdują się gatunki patogene dla człowieka (2, 4, 7, 8, 9). Związek między obecnością patogennych drobnoustrojów w mleku a chorobami przenoszonymi na człowieka przez żywność (foodborne diseases – choroby odżywczościowe, enteropatie pokarmowe) ma odzwierciedlenie w piśmiennictwie.

Mleko, które pochodzi od krów z *mastitis* oraz produkty otrzymane z takiego surowca mogą być przyczyną chorób u ludzi wskutek zakażenia i/lub zatrucia toksynami bakteryjnymi. Boor (10) przytoczyła dowody z piśmiennictwa na temat bezpośredniego związku między spożyciem

# Charakterystyka zapaleń gruczołu mlekowego u krów wywołanych przez odżywczościowe patogeny człowieka

Edward Malinowski<sup>1,2</sup>, Zdzisław Gajewski<sup>2</sup>

z Zakładu Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, Oddział w Bydgoszczy<sup>1</sup> i z Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie<sup>2</sup>

mleka a wybuchem chorób spowodowanych przez *Streptococcus zooepidemicus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Brucella melitensis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella javiana*, *Salmonella* Oranienburg, *Salmonella* Dublin, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella anatum*, *E. coli* O157: H7 i *Campylobacter jejuni*. Oprócz tego mleko jest transmiterem wielu innych, niebezpiecznych dla człowieka drobnoustrojów, które znajdują się w organizmie zakażonego zwierzęcia (11, 12, 13, 14). Źródłem odżywczościowych drobnoustrojów chorobotwórczych, takich jak *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* oraz toksyczne (STEC) szczepy *E. coli*, może być sama krowa lub środowisko, w którym przebywa. Drobnoustroje te mogą przedostać się do mleka pośrednio z otoczenia (niedostateczna higiena) oraz bezpośrednio wskutek wydalania ich do mleka przez zakażone zwierzę (8, 15). Wykaz drobnoustrojów wywołujących *mastitis* u krów, które jednocześnie stanowią przyczynę chorób przenoszonych przez mleko (milkborne diseases) zawiera **tabela 1**.

Zakażona żywność, w tym mleko i produkty mleczne, stanowi przyczynę problemów zdrowotnych, ważnych zarówno z punktu widzenia pojedynczego człowieka, jak też rodzin, populacji ludzkich czy też krajów. Odsetek chorób przenoszonych przez żywność w krajach rozwiniętych wzrósł w ostatnich 2–3. dekadach (16). W USA oszacowano, że rocznie choroby przenoszone przez żywność dotyczą 76 mln mieszkańców tego kraju (17). Czynniki etiologicznymi tych chorób były wirusy, bakterie i pasożyty. Wśród bakterii występowały między innymi: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. *E. coli*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. i *Shigella* spp. We Francji (18) czynnikami etiologicznymi chorób przenoszonych przez żywność były w kolejności: *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* oraz inne bakterie (w tym *E. coli* i *Campylobacter* spp.). Na Tajwanie (19) stwierdzono: *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*

*cereus*, *E. coli* i *Salmonella* spp. oraz w niewielkim odsetku inne bakterie. W Polsce przeważały salmonelle, paciorkowce z grupy A i gronkowiec złocisty. Występowały też: *E. coli*, *Campylobacter* spp., *Leptospira* spp. i *Listeria* spp. oraz *Brucella abortus melitensis* (20). Oprócz wymienionych gatunków do „foodborne pathogens” zalicza się między innymi: *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Mycobacterium avium* v. *paratuberculosis* i *Coxiella burnetii* (11, 21, 22, 23, 24). Zachorowania spowodować może także *Prototheca* spp. (25). Wszystkie wymienione drobnoustroje wywołują, chociaż z różną częstotliwością, zapalenia gruczołu mlekowego u krów. Procentowy udział poszczególnych gatunków w chorobach człowieka przenoszonych przez mleko jest jednak inny niż w wywoływaniu *mastitis* u krów. Choroby człowieka związane z mlekiem i produktami mlecznymi nie stanowią jednak najważniejszej grupy wśród enteropatii pokarmowych.

## Charakterystyka zapaleń wymienia wywołanych przez drobnoustroje chorobotwórcze dla człowieka

### *Staphylococcus aureus*

Gronkowiec złocisty jest obecnie najczęstszym i najtrudniejszym do zwalczania patogenem *mastitis* u krów (3, 4, 5, 26). Z uwagi na sposób szerzenia się w stadzie (z krowy na krowę) zaliczany jest do tzw. drobnoustrojów zakaźnych (contagious). Zapalenia spowodowane przez *S. aureus* z reguły są przewlekłe i przebiegają bez objawów klinicznych. Patogenność gronkowca złocistego jest skutkiem ekspresji szeregu czynników wirulencji, które prowadzą do adhezji, ucieczki przed systemem obronnym oraz rozprzestrzenienia się w organizmie gospodarza (4, 27, 28, 29, 30). Prawie wszystkie szczepy wytwarzają enzymy i cytotoksyny, takie jak: hemolizyna, nukleaza, proteaza, lipaza, hialuronidaza oraz kolagenaza. Część szczepów wytwarza także jedną lub więcej dodatkowych

egzoprotein, do których należą enterotoksyny, toksyna zespołu wstrząsu toksycznego (TSST-1), eksfoliatyny i leukocydyna. Enterotoksyny oraz TSST-1 należą do pirogennych egzotoksyn i mają właściwości superantygenów. Prowadzą one do masywnej aktywacji limfocytów T i uwolnienia dużej ilości cytokin odpowiedzialnych za objawy wstrząsu toksycznego. Enterotoksyny gronkowcowe są względnie stabilnymi białkami, opornymi na działanie enzymów trawiennych, które po podaniu *per os* wywołują intoksykację pokarmowe. Obecnie znanych jest ponad 20 antygenowych typów enterotoksyn (4). Stwierdzono, że 95% pokarmowych zatruc gronkowcowych ma związek z tzw. enterotoksynami klasycznymi (SEA – SED), w tym głównie z SEA (31), wzrasta też udział SED, SEH i SEI (55). Badania własne wykazały, że 22,1% szczepów gronkowców wyizolowanych z wydzieliny zapalnej wymienia krów cechowało się zdolnością wytwarzania jednej lub dwu enterotoksyn (32). Szczepy wywołujące *mastitis* cechowały się też posiadaniem genów: *seg*, *seh*, *sei* i *sej* (29). Odsetek enterotoksycznych szczepów *Staphylococcus aureus*, wyizolowanych z *mastitis* u krów, wahał się w różnych krajach w granicach od 1 do 63% (33). Enterotoksyczne szczepy gronkowców wykazano w mleku surowym (34). Wyniki nowszych badań nad wytwarzaniem enterotoksyn przez „mastitogenne” gronkowce złoście zawiera **tabela 2**.

Gronkowce odpowiedzialne są na zatrucia pokarmowe, wstrząs toksyczny oraz tzw. zespół skórny. Zatrucia toksynami gronkowcowymi stanowiły drugą grupę chorób (po *V. parahaemolyticus*) przenoszonych przez żywność na Tajwanie (19), jak też (po *Salmonella* spp.) we Francji (18) oraz w Polsce (34). Ponad 32% zatruc gronkowcowych we Francji wiązało się z zakażeniami produktami mlecznymi (37).

### **Escherichia coli**

Należy do tzw. patogenów środowiskowych i obok innych bakterii z grupy *coli* odpowiada za większość klinicznych przypadków zapalenia wymienia, które ze względu na charakterystyczny, ostry przebieg, określono nazwą „*colimastitis*” (38). Oprócz *E. coli*, najczęściej izolowano gatunki z rodzajów *Klebsiella* i *Enterobacter* (3, 39). Drobnoustroje te wywołują około 30–40% klinicznych, przeważnie ostrych, miejscowych zapaleń wymienia. Żyją w oborniku, w materiale służącym jako ściółka, w glebie i w zanieczyszczonej wodzie. Najczęściej do zakażeń (na drodze galaktogennej) dochodzi na początku i pod koniec zasuszenia oraz w czasie porodu. Z tego powodu bezpośrednio po porodzie, jak też w okresie pierwszych 6 tygodni laktacji

**Tabela 1.** Udział bakterii zaliczanych do patogenów odżywnościowych w wywoływaniu *mastitis* u krów

Drobnoustrój	Postać <i>mastitis</i>	Odsetek krów/rok
<i>Staphylococcus aureus</i>	podkliniczna, przewlekła, ostra	5–50
<i>Escherichia coli</i>	nadostra, ostra, przewlekła podkliniczna	5–20
<i>Streptococcus agalactiae</i>	podkliniczna, przewlekła, ostra	2–25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ostra, przewlekła	<1
<i>Bacillus cereus</i>	ostra, przewlekła	<1
<i>Listeria monocytogenes</i>	przewlekła	<0,1
<i>Pasteurella haemolytica</i>	ostra	<0,1
<i>Brucella abortus melitensis</i>	podkliniczna, przewlekła, ostra	<0,1
<i>Salmonella enteritidis</i>	ostra, przewlekła	<0,1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ostra	<0,1
<i>Campylobacter jejuni</i>	ostra	<0,1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ostra	<0,1
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	podkliniczna	<0,1
<i>Prototheca</i> spp.	przewlekła, ostra	<1

**Tabela 2.** Wytwarzanie enterotoksyn przez szczepy *Staphylococcus aureus* z *mastitis* u krów

Liczba zbadanych szczepów	Liczba (procent) ESA dodatkich	Toksyny lub geny (n)	Autor (pozycja piśmiennictwa)
103	54 (52)	SEJ(17), SED+SEJ (21), SEC+SEG+SEI+TSST-1(15), SEA+SEC+TSST-1 (1)	Akineden i wsp. (27)
160	22 (13,7)	SEC (7), SED (12), SEC+SED (3)	Cenci-Goga i wsp. (35)
231	173 (74,9)	<i>seg</i> (167), <i>sei</i> (161), <i>sec</i> (109), <i>sell</i> (103), <i>selm</i> (29), <i>selo</i> (14), <i>selm</i> (8), <i>seh</i> (4), <i>seb</i> (3)	Hata i wsp. (28)
104	23 (22,1)	SEA (9), SEB (1), SEC (4), SED (7), SEC+TSST-1 (2)	Kuźma i wsp. (29)
166	37 (22,9)	SEA (32), SEB (3), SEC (1), SEA+TSST-1 (1)	Lim i wsp. (36)

obserwuje się najwięcej przypadków *colimastitis*. Ostre postaci częściej występują w miesiącach letnich, kiedy zwierzęta ulegają wpływom stresu termicznego. Bardziej podatne na zakażenia są krowy o wyższej wydajności.

Około 10% przypadków *colimastitis* cechuje się nadostrym przebiegiem z silnie wyrażonymi objawami ogólnymi (gorączka, drgawki, trącenie apetytu, porażenia) i miejscowymi, co nierzadko kończy się ograniczeniem wydzielania mleka lub nawet śmiercią zwierzęcia (40). Wymienione zmiany spowodowane są przez uwolnioną endotoksynę oraz mediatory stanu zapalnego, w tym TNF- $\alpha$ . Ostatnio obserwuje się zapalenia przewlekłe, a nawet podkliniczne (39, 41).

Do tej pory nie brano pod uwagę związku *colimastitis* z zachorowaniami ludzi. Szczepy wytwarzające toksynę typu Shiga (STEC – Shiga toxin-producing *Escherichia coli*) izolowane są głównie z kału krów (42) i to one stanowią przyczynę zakażeń mięsa i produktów mleczarskich (43). Obecność bakterii, jak też mediatorów procesu zapalnego w wydzielinie

z ćwiartek objętych ostrą postacią *colimastitis* nie jest brana pod uwagę z uwagi na rygorystyczne przestrzeganie przez producentów zakazu odstawiania (sprzedawania) mleka zmienionego makroskopowo. Problemem jednak mogą stać się zapalenia podkliniczne, spowodowane przez szczepy STEC. W Nowej Zelandii wykazano obecność dziewięciu genów wirulencji w 37,5% szczepów *E. coli* wyizolowanych z wydzieliny zapalnej wymienia. Najczęściej występowały geny *stx1*, *enf2*, *vt2e* i *eae* (44). Ostatnio, przy użyciu metody PCR, przebadano w Polsce 100 szczepów *E. coli*, wyizolowanych z wydzieliny zapalnej wymienia krów, na obecność genów odpowiedzialnych za produkcję odmian toksyny Shiga (*stx1*, *stx2*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*). U 4 szczepów stwierdzono występowanie genów: *stx2*, *stx2c* i *stx2e* (45). Dane te, jak też wyniki badań innych autorów, zawiera **tabela 3**.

Szczepy shigatoksyczne odpowiedzialne są za biegunki o lekkim przebiegu, jak też za krwotoczne zapalenie okrężnicy oraz hemolityczny zespół mocznicowy (48).

Tabela 3. Zdolność do produkcji toksyny shiga przez szczepy *E. coli* z mastitis u krów

Liczba zbadanych szczepów	Odsetek STEC-dodatnich	Geny (procent wśród STEC +)	Autor (pozycja piśmiennictwa)
80	30,7	<i>stx1</i> (31), <i>stx2</i> (7,5), <i>vt2e</i> (6,25), <i>eae</i> (4)	Bean i wsp. (46)
100	4	<i>stx2e</i> (3), <i>stx2+stx2c</i> (1)	Kłossowska i wsp. (45)
182	12,8	<i>stx1</i> , <i>stx2</i> , <i>eae</i>	Lira i wsp. (47)

### *Streptococcus agalactiae*

Drobnoustrój ten stanowi przyczynę ostrych, przewlekłych oraz podklinicznych zapaleń wymienia (5, 6, 9, 39) i nosi nazwę patogenu zakaźnego. Jedynym rezerwuarem *Streptococcus agalactiae* jest wydzielina (mleko) z zakażonych ćwiartek. Drobnoustroje te można wykryć także na powierzchniach, które w ostatnim czasie miały kontakt z zakażonym mlekiem, takich jak wyposażenie dojazdowe, ręce dojarzy i ściółka. Przenoszenie *Streptococcus agalactiae* na ćwiartki zdrowe zachodzi głównie podczas doju. Przy braku higieny wymion oraz skutecznych działań profilaktyczno-leczniczych, bakteria ta może się szybko rozprzestrzeniać wśród całego stada. Niekompletne wydojenie zakażonych ćwiartek może stanowić przyczynę wzrostu przypadków o ostрым przebiegu. Jałówki mogą się zarażać podczas wzajemnego ssania się w boksach grupowych, szczególnie wtedy, kiedy otrzymują do picia zakażoną siarę lub mleko.

*Streptococcus agalactiae* w ogromnych ilościach znajduje się w mleku zakażonej ćwiartki. Wykazano, że jedna zakażona ćwiartka w stadzie złożonym ze 100 krów może zawierać w mleku zbiorczym powyżej 100 000 bakterii/ml. Zakażone ćwiartki cechuje z reguły wysoka liczba, w granicach od 1 do 10 mln/ml lub więcej komórek somatycznych, które w znaczny sposób podnoszą liczbę komórek somatycznych (SCC) w mleku zbiorczym. Widoczną cechą jest zmiana barwy mleka (zażółcenie), rozwodnienie oraz obecność domieszek (strzępki, kłaczkki). Charakterystycznym objawem klinicznym jest przerost ścian zatok i przewodów wyprowadzających mleko oraz zanik tkanki wydzielniczej (6, 49).

Paciorkowce bezmleczności zaliczane są do drobnoustrojów patogennych dla człowieka. Stanowią przyczynę zapalenia płuc i opon mózgowych u dzieci – noworodków i oseków. Dawniej przyjmowano, że człowiek zakaża się od krowy. Badania oparte na biologii molekularnej dostarczyły jednak dowodów, że *Streptococcus agalactiae*, który zakaża człowieka, różni się od paciorkowca bezmleczności wywołującego mastitis (22). Leigh (21), na podstawie analizy przedmiotowego piśmiennictwa doszedł do wniosku, że bydłocy i ludzki *Streptococcus agalactiae* tworzą w dużym stopniu samodzielne populacje o różnym pochodzeniu rozwojowym

(ewolucyjnym). Jednak patogenne paciorkowce, które występują w populacji ludzkiej mogą zakażać i krążyć wśród krów, co w konsekwencji stanowi źródło czynników zakaźnych dla człowieka.

Innym paciorkowcem, który wywołuje mastitis u krów i stanowi przyczynę chorób ludzi, jest *Streptococcus zooepidemicus*. Stany zapalne wymienia są stosunkowo rzadkie i przeważnie mają przebieg przewlekły, podkliniczny. Wymieniony drobnoustrój opisano jako przyczynę zapalenia płuc, opon mózgowych, stawów oraz bakteriemii u ludzi, a źródłem zakażenia był niewłaściwie pasteryzowany ser (50).

### *Salmonella* spp.

Pałeczki *Salmonella* mogą wywoływać mastitis u krów, chociaż zapalenia są niezwykle rzadkie. *Salmonella enterica*, serotyp Typhimurium izolowano z krwi krów z ostrą, ciężką postacią mastitis (31). Warto dodać, że obecność tych drobnoustrojów w mleku stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia człowieka (51, 52). Salmonele wymieniane są obecnie jako pierwsza (18) lub druga (17) grupa bakteryjnych chorób związanych z żywnością. W Polsce *Salmonella* spp. stanowi najważniejszą grupę odżywnościowych drobnoustrojów chorobotwórczych (20). Izolowano je między innymi z kału dzieci z biegunką (53). Salmonele u ludzi związane ze spożyciem mleka i przetworów mleczarskich, jak też gatunki pałeczek *Salmonella*, które były przyczyną zachorowań, przedstawiła Molska (54).

### *Campylobacter jejuni*

Wymieniona bakteria jest stosunkowo rzadkim patogenem mastitis u krów. Zapalenie może mieć ciężki, ostry przebieg z utratą apetytu i wysoką gorączką (55). Ostre zapalenie wymienia uzyskano też w warunkach eksperymentalnych (56). *Campylobacter jejuni* izolowano z mleka zbiorczego (57).

Zakażenia i zachorowania ludzi związane były ze spożyciem mleka surowego, którego nie poddawano pasteryzacji (58). Przypadki enteritis spowodowane były przez mleko pochodzące od krów z zapaleniem wymienia, naturalnie wywołanym przez *C. jejuni* (59, 60). Meng i Dole (51) podają, że w ostatnich 20 latach drobnoustrój ten należał do głównych „foodborne

pathogens”, a z przypadków chorobowych u ludzi w USA izolowany był najczęściej (17). Pojedyncze zachorowania notowane były także w Polsce (20).

### *Listeria monocytogenes*

Stanowi sporadyczną przyczynę poronień lub zapalenia opon mózgowych u bydła jako wynik skarmiania kiszonki złej jakości (61). Powoduje też przewlekłe, śródmiąższowe podkliniczne zapalenie gruczołu mlekowego, które prowadzi do zaniku zakażonej ćwiartki (62, 63). Do zakażeń wymienia może dojść na drodze galaktogennej i hematogennej (64). Zapalenia są trudne do wyleczenia, gdyż drobnoustrój ten cechuje się wysoką opornością na cefalosporyny, streptomycyny, trimetoprim, amicylinę, rifampicynę, rifamycynę i florfenikol. Wrażliwość *in vitro* wykazuje w stosunku do amoksyliny, erytromycyny, gentamycyny, kanamycyny i wankomycyny (65). Wymieniony drobnoustrój występuje okresowo w kale krowy oraz w środowisku jej życia i te źródła należy brać pod uwagę na pierwszym miejscu w rozpatrywaniu przyczyn zakażenia wymienia i/lub świeżego mleka (64, 66). Znalezienie w mleku surowym *L. monocytogenes* lub nawet innego gatunku listerii wskazuje na konieczność radykalnej poprawy higieny środowiska i pozyskiwania mleka.

*Listeria monocytogenes* jest ważną przyczyną chorób człowieka przenoszonych przez żywność (67), w tym przez mleko i produkty mleczne (10, 66). Powoduje poroniecia, przedwczesne porody, zapalenie opon mózgowych i zakażenia noworodków (67, 68).

### *Bacillus cereus*

Pałeczki Gram-dodatnie, takie jak *Bacillus cereus* i *Bacillus subtilis*, występują, chociaż niebýt często, w roli czynników etiologicznych zapalenia gruczołu mlekowego u krów (5, 6). Wywołują zapalenia ostre, przewlekłe lub podkliniczne. Liczba komórek może wynosić od 200 000 do 10 mln w 1 ml mleka (38). Obecność *Bacillus* spp. stwierdzono we krwi krów chorych na ostrą postać mastitis w czasie trwania laktacji (40). Bakterie te są rozpowszechnione w środowisku, co obejmuje glebę, wodę, obornik, paszę, w tym kiszonkę i młóto. Ich obecność wykazywano w mleku zbiorczym (2, 69). Należy dodać, że endospory *B. cereus* są odporne na pasteryzację (70).

*Bacillus cereus* wykazywano w granicach od 3,7 (18) do 20,8% (19) przypadków wśród chorób człowieka przenoszonych przez żywność. Drobnoustrój ten produkuje toksyny, które odpowiedzialne są za 2 rodzaje zatruc pokarmowych, które noszą nazwę zespołów biegunkowego lub

wymiotnego. Zespół biegunkowy związany jest z toksyną ciepłochwiejną, a zespół wymiotny z toksyną ciepłooporną (cyt. 70).

### ***Brucella* spp.**

Zapalenie gruczołu mlekowego u krów wywołuje *Brucella abortus bovis* oraz *Br. melitensis*. Drobnoustroje te, a szczególnie *Br. melitensis*, stanowią także przyczynę *mastitis* u owiec i kóz. Brucelloza wymienia krów ma przebieg podkliniczny lub niekiedy kliniczny – przewlekły. Do zakażeń dochodzi na drodze hematogennej, a drobnoustroje umiejscawiają się głównie w tkance śródmiąższowej gruczołu mlekowego. Zakażone krowy i owce ciągle wydalają drobnoustroje z mlekiem (71). Mleko i jego przetwory, w tym głównie mleko surowe (niepoddane obróbce termicznej) i przetwory z mleka surowego stanowią najczęstsze źródło zakażeń człowieka (72, 73).

### ***Pseudomonas aeruginosa***

Drobnoustrój ten wywołuje zarówno kliniczne, jak też podkliniczne zapalenie wymienia (74, 75). Objawy kliniczne są zróżnicowane, od łagodnych po nadostre, nawet w połączeniu ze zgorzełą, co obserwowano w zasuszeniu. Większość przypadków przybiera postać przewlekłą, z zaostrzeniami o stosunkowo łagodnym przebiegu. Źródłem zakażenia jest zanieczyszczona woda. Drobnoustroje te izolowano także z mokrej powierzchni legowiska, ściółki, ziemi, kału, kubków strzykowych, zanieczyszczonych preparatów antybiotykowych i strzykawek, a nawet z niektórych środków do dezynfekcji strzyków (76). *Pseudomonas aeruginosa* jest patogenem chorób ludzi i zwierząt (77). Opisano endemię zachorowań dzieci wskutek spożycia zakażonego mleka (78). Drobnoustrój ten izolowano z kału dzieci chorych z objawami biegunki (53). Badania genetyczne szczepów wyizolowanych z *mastitis* u krów i szczepów wyizolowanych z klinicznych zakażeń u ludzi, nie potwierdziły bliskiego pokrewieństwa tych drobnoustrojów (77).

### ***Prototheca* spp.**

Czynnik etiologiczny *mastitis* u krów stanowią bezchlorofilowe glony z rodzaju *Prototheca*, takie jak *Prototheca zopfii* i *Prototheca wickerhamii*. Drobnoustroje te zakwalifikowano do patogenów środowiskowych, mimo że mogą przenosić się z krowy na krowę w czasie doju. Źródłem tych glonów jest zanieczyszczona woda (w tym stawy, kanały, kałuże), gleba, fekalia, korytarze w oborach, poczekalnie przed dojarnią, nowe zwierzęta wprowadzone do stada i zanieczyszczona ściółka. Zapalenie

charakteryzuje się przewlekłym klinicznym lub podklinicznym przebiegiem z okresami zaostrzenia. Zakażone ćwiartki mogą stać się obrzękłe i twarde. Przeważnie nie obserwuje się objawów ogólnych. Spada wydajność mleczna, a zwiększeniu ulega liczba drobnoustrojów i komórek w mleku zbiorczym. Rozpoznanie opiera się na badaniu laboratoryjnym i wykazaniu obecności charakterystycznych endospor w próbkach wydzieliny zapalnej (49, 79). Zasady leczenia *mastitis protothecosa* nie zostały opracowane. Jedynym sposobem eliminacji *Prototheca* spp. ze stada krów jest prawidłowe rozpoznanie zakażenia oraz wybrakowanie krów zakażonych. Należy dodać, że drobnoustroje te mogą przeżyć temperaturę pasteryzacji (25).

Drobnoustroje z rodzaju *Prototheca* mogą wywołać u ludzi zapalenie skóry, zapalenie łokciowej kaletki maziowej oraz tzw. prototekozę rozsianą (przewodu pokarmowego, płuc, krwi). Podatność na zakażenie wymienionymi drobnoustrojami jest następstwem osłabienia mechanizmów obronnych (80). Do tej pory nie dowiedziono związku *mastitis* u krów z zakażeniami człowieka. Autorzy brazylijscy stwierdzili jednak, że przyczyną prototekozy przewodu pokarmowego u ludzi był ser zakażony *Prototheca* spp. (cyt. 25).

### ***Coxiella burnetii***

Zarazek ten izolowano z próbek mleka krów, które wykazywały zaburzenia reprodukcyjne (14), jak też od seropozytywnych w badaniach na nosicielstwo (81). Podczas przewlekłej fazy zakażenia u krów drobnoustroje osiedlają się głównie w macicy i w gruczole mlekowym (82). Przeciwciała dla *Coxiella burnetii* wykazano także w 21% próbek mleka zbiorczego (24). W badaniach przeprowadzonych w USA stwierdzono obecność tego drobnoustroju w próbkach mleka z 94% stad (12). Zatem mleko wydaje się głównym transmiterem gorączki Q na człowieka.

Ważnym problemem zdrowotnym i ekonomicznym w hodowli bydła mlecznego jest paratuberkuloza. Uważa się też, że *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* stanowi także przyczynę choroby Leśniowskiego-Crohna u ludzi. Drobnoustrój wyizolowano z różnych narządów i płynów fizjologicznych organizmu, w tym z gruczołu mlekowego i mleka krów (11). Z uwagi na fakt, że pałeczki te mogą być wydalone z mlekiem i mogą przeżywać temperaturę pasteryzacji, zachodzi podejrzenie, że mleko od chorych krów może być źródłem zakażenia dla człowieka (66). Istnieją przypuszczenia, że drobnoustroje mogą być chronione przez fagocytyujące je makrofagi mleka przed działaniem temperatury pasteryzacji (13).

## **Podsumowanie**

Drobnoustroje wywołujące *mastitis* u krów są rzeczywistymi lub potencjalnymi patogenami bakteryjnych chorób przenoszonych na człowieka przez mleko i jego produkty.

Zachorowania są przede wszystkim następstwem spożywania niepasteryzowanego mleka oraz niektórych produktów z niego wykonanych (8). Ze stanem zapalnym, nawet podklinicznym, ma związek wzrost pozostałości antybiotyków, jak też zwiększona liczba drobnoustrojów, których część może okazać się oporna na pasteryzację (7). Wpływ *mastitis* na zdrowie człowieka może wyrazić się zarówno zakażeniem i/lub zatruciem pokarmowym, alergią, słabszym rozwojem wskutek zmniejszenia wartości odżywczych, wzrostem antybiotykooporności wśród patogennych dla niego drobnoustrojów, jak też zaburzeniami w układach immunologicznym i hormonalnym spowodowanymi przez aktywne związki wyzwolone podczas procesu zapalnego. Stany zapalne gruczołu mlekowego oraz metody przeciwdziałania niektórym ich skutkom prowadzą do ograniczenia obecności w mleku aktywnych farmakologicznie składników prozdrowotnych.

Należy zatem stwierdzić, że przestrzeganie zasad higieny podczas pozyskiwania i przechowywania mleka surowego oraz wytwarzania produktów mleczarskich, jak też profilaktyka i terapia *mastitis*, zmniejszają ryzyko wybuchu chorób przenoszonych przez mleko, a tym samym zwiększają bezpieczeństwo zdrowotne żywności. Postępy w mikrobiologii, opracowanie i wprowadzenie do praktyki nowych, bardziej precyzyjnych metod rozpoznawania zakażenia wraz z ograniczaniem tzw. presji infekcji, na co składa się higiena środowiska krowy, stanowią ważny składnik profilaktyki odżywnościowych chorób człowieka.

## **Piśmiennictwo**

1. Watts L.J.: Etiological agents of bovine mastitis. *Vet. Microbiol.* 1988, **16**, 41-66.
2. Klossowska A., Malinowski E.: Drobnoustroje patogene dla człowieka w mleku zbiorczym. *Medycyna Wet.* 2001, **57**, 28-33.
3. Bradley A.: Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet. J.* 2002, **164**, 116-128.
4. Fijałkowski K., Czernomysy-Furowicz D., Ferlas M.: *Staphylococcus aureus* kontra układ immunologiczny. *Post. Mikrobiol.* 2008, **47**, 497-501.
5. Malinowski E., Lassa H., Klossowska A., Smulski S., Markiewicz H., Kaczmarowski M.: Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland. *Pol. J. Vet. Sci.* 2006, **9**, 191-194.
6. Philpot N.W., Nickerson S.C.: *Zwyciężyć w walce z mastitis*. Wyd. WestfaliaSurge, Polska, Bydgoszcz 2006.
7. Hogan J.: Human health risks associated with high SCC milk: Symposium overview. *Proc. 44th National Mastitis Council Annual Meeting*. Orlando, Florida 2005, s. 73-75.
8. Oliver S.P., Jayarao B.M., Almeida R.A.: Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathog. Dis.* 2005, **2**, 115-129.
9. Oliver S.P., Jayarao B.M., Almeida A.A.: Foodborne pathogens, mastitis, milk quality, and dairy food safety. *Proc. National Mastitis Council Annual Meeting*. Orlando, Florida 2005c, s. 3-27.

10. Boor K.J.: Mastitis and dairy food safety. *Proc. III Pan-American Congress on Mastitis Control and Milk Quality*. Leon, Mexico 2006, s. 223-237.
11. Collins M.T.: Mycobacterium paratuberculosis: a potential food-borne pathogen? *J. Dairy Sci.* 1997, **80**, 3445-3448.
12. Kim S.G., Kim E.H., Lafferty C.J., Dubovi E.: Coxiella burnetii in bulk tank milk samples, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2005, **11**, 619-621.
13. Stabel J.R.: Johne's disease and milk: do consumers need to worry. *J. Dairy Sci.* 2000, **83**, 1659-1663.
14. To H., Htwe K.K., Kako N., Kim H.T., Yamaguchi T., Fukushi H., Hirai K.: Prevalence of Coxiella burnetii infection in dairy cattle with reproductive disorders. *J. Vet. Med. Sci.* 1998, **60**, 859-861.
15. Oliver S.P., Murinda S.E., Nguyen L.T., Nam H.M., Almeida R.A., Haendrick S.J.: On-farm sources of foodborne pathogens: isolation from the dairy environment. *Mastitis in dairy production*. Wageningen Academic Publishers 2005, s. 665-670.
16. Käferstein E.K.: Actions to reverse the upward curve of foodborne illness. *Food Control* 2003, **14**, 101-109.
17. Mead P.S., Slutsker L., Dietz V., McCaig L.F., Bresee J.S., Shapiro C., Griffin P.M., Tauxe R.V.: Food-related illnesses and death in United States. *Emerging Infect. Dis.* 1999, **5**, 607-612.
18. Le Loir Y., Baron F., Gautier M.: Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2003, **2**, 63-76.
19. Pan T.M., Wang T.K., Lee C.L., Chien S.W., Horng C.B.: Food-borne disease outbreaks due to bacteria in Taiwan, 1986 to 1995. *J. Clin. Microbiol.* 1997, **35**, 1260-1262.
20. Epidemiol. Infect. 1993, **110**, 519-531.
21. Czarkowski M.P., Cielebąk E., Stepien E., Kondej B.: Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce w 2004 roku. *Biuletyn PZH*, Warszawa, 2005.
22. Leigh J.A.: Are bovine Streptococcus agalactiae (GBS) a leading cause of neonatal death? *Proc. National Mastitis Council Annual Meeting*. Orlando, Florida 2005, 41-51.
23. Martinez G., Harel J., Higgins R., Lacouture S., Daignault D., Gottschalk M.: Characterization of Streptococcus agalactiae isolates from bovine and human origin by randomly amplified polymorphic DNA analysis. *J. Clin. Microbiol.* 2000, **38**, 71-78.
24. Nuta M., Van der Giessen J.W.B.: Human exposure to Mycobacterium paratuberculosis via pasteurized milk: A modeling approach. *Vet. Rec.* 1998, **143**, 293-296.
25. Paiba G.A., Green E., Lloyd G., Patel D., Morgan K.L.: Prevalence and antibodies to Coxiella burnetii (Q fever) in bulk tank milk in England and Wales. *Vet. Rec.* 1999, **144**, 519-522.
26. Melville P.A., Watanabe E.J., Benites N.R., Ribeiro A.R., Silva J.A.B., Garino F., Costa E.O.: Evaluation of the susceptibility of Prototheca zopfii to milk pasteurization. *Mycopathologia* 1999, **146**, 79-82.
27. Smith G.W., Lyman R.L., Anderson K.K.: Efficacy of vaccination and antimicrobial treatment to eliminate chronic intramammary Staphylococcus aureus infections in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2006, **228**, 422-425.
28. Akineden O., Annemuller C., Hassa A.A., Lamler C., Wolter W., Zschock M.: Toxigenes and other characteristics of Staphylococcus aureus isolates from milk of cows with mastitis. *Clin. Diagn. Immunol.* 2001, **8**, 959-964.
29. Hata E., Katsuda K., Kobayashi H., Ogawa T., Endo T., Eguchi M.: Characteristics and epidemiologic genotyping of Staphylococcus aureus isolates from bovine mastitic milk in Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 2006, **68**, 165-170.
30. Kuźma K., Malinowski E., Lassa H., Klossowska A.: Detection of genes for enterotoxins and toxic shock syndrome toxin-1 in Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2003, **47**, 419-426.
31. McLauchlin J., Narayanan G.L., Mithani V., O'Neill G.: The detection of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin genes in Staphylococcus aureus by polymerase chain reaction. *J. Food Prot.* 2000, **63**, 479-488.
32. Wieneke A.A., Roberts D., Gilbert R.J.: Staphylococcal poisoning in the United Kingdom, 1969-90. *Epidemiol. Infect.* 1993, **110**, 519-531.
33. Kuźma K., Malinowski E., Lassa H., Klossowska A.: Wytwarzanie enterotoksyn oraz toksyny zespolu wstrząsu toksycznego przez szczepy Staphylococcus aureus izolowane z mastitis u krów. *Medycyna Wet.* 2005, **61**, 282-285.
34. Larsen H.D., Aarestrup F.M., Jensen N.E.: Geographical variation in the presence of genes encoding superantigenic exotoxins and beta-hemolysin among Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis in Europe and USA. *Vet. Microbiol.* 2002, **85**, 61-67.
35. Bystron J., Kosek-Paszowska K., Molenda J.: Występowanie gronkoczków enterotoksycznych w mleku surowym. *Medycyna Wet.* 2001, **57**, 645-648.
36. Hussein H.S., Sakuma T.: Prevalence of shiga toxin-producing Escherichia coli in dairy cattle and their products. *J. Dairy Sci.* 2005, **88**, 450-465.
37. Cenci-Goga B.T., Karama M., ERossitto P.V., Morgante R.A., Cullor J.S.: Enterotoxin production by Staphylococcus aureus isolated from mastitis cows. *J. Food. Prot.* 2003, **66**, 1693-1696.
38. Lim S., Joo Y., Moon J., Lee A., Wee S., Koh H.: Molecular typing of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis in Korea. *J. Vet. Med. Sci.* 2004, **66**, 581-584.
39. Haeghebaert S., Le Querrec F., Gallay A., Boovet P., Gomez M., Vaillant U.: Les toxi-infections alimentaires collectives en France, en 1999 et 2000. *Bull. Epidémiol. Hebd.* 2002, **23**, 105-109.
40. Hogan J., Smith K.L.: Coliform mastitis. *Vet. Res.* 2003, **34**, 507-519.
41. Malinowski E., Lassa H., Klossowska A., Markiewicz H., Kaczmarski M., Smulski S.: Relationship between mastitis agents and somatic cell count in foremilk samples. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2006, **50**, 349-352.
42. Wenz J.R., Barrington G.M., Garry F.B., McSweeney K.D., Dinsmore R.P., Goodell G., Callan R.J.: Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2001, **219**, 976-981.
43. Bradley A.J., Green M.J.: Adaptation of Escherichia coli to the bovine mammary gland. *J. Clin. Microbiol.* 2001, **39**, 1845-1849.
44. Kijima-Tanaka M., Ishihara K., Kojima A., Morioka A., Nagata R., Kavanishi M., Nakazawa M., Tamura Y., Takahashi T.: A national surveillance of Shiga toxin-producing Escherichia coli in food-producing animals in Japan. *J. Vet. Med. B* 2005, **52**, 230-237.
45. Cursons R.T., Williamson J., Bean A.: Shiga toxin genes from Escherichia coli strains isolated from mastitic milk. *W: Mastitis in Dairy Production*. Wageningen Academic Publishers 2005, s. 671-676.
46. Klossowska A., Malinowski E.: Shiga toksyczne szczepy Escherichia coli wyizolowane z mastitis u krów. *Medycyna Wet.* 2007, **63**, 1108-1110.
47. Bean A., Williamson J., Cursons R.T.: Virulence genes of Escherichia coli strains isolated from mastitic milk. *J. Vet. Med. B* 2004, **51**, 285-287.
48. Lira W.M., Macedo C., Marin J.M.: The incidence of Shiga toxin producing Escherichia coli in cvattle with mastitis in Brazil. *J. Appl. Microbiol.* 2004, **97**, 861-866.
49. Altecruse S.T., Cohen M.L., Swerdlow D.E.: Emerging foodborne diseases. *Emerg. Infect. Dis.* 1997, **3**, 285-293.
50. Malinowski E., Lassa H., Klossowska A.: Isolation of Prototheca zopfii from inflamed secretion of udders. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2002, **46**, 295-299.
51. Bordes-Benitez A., Sanchez-Onoro M., Suarez-Bordon P., Garcia-Rojas A.J., Saez-Nieto J.A., Gonzalez-Garcia A., Alamo-Antunez I., Sanchez-Marato A., Bolanos-Rivero M.: Outbreak of Streptococcus equi subsp. zooepidemicus infections on the island of Gran Canaria associated with the consumption of inadequately pasteurized cheese. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2006, **25**, 242-246.
52. Meng J., Doyle M.P.: Emerging and evolving microbial foodborne pathogens. *Bull. Inst. Pasteur* 1998, **96**, 151-164.
53. Wells J., Ott S.L., Seitzinger H.A.: Key health issues for dairy cattle - new and old. *J. Dairy Sci.* 1998, **81**, 3029-3035.
54. Roźkiewicz D., Zaremba M.L., Danilut F., Ściepek M., Kurzątkowska B., Oldak E.: Bakteryjne czynniki etiologiczne w biegunkach u dzieci z regionu białostockiego hospitalizowanych w roku 2003. *Post. Microbiol.* 2004, **43**, supl. 1, s. 126.
55. Molska I.: Występowanie pałeczek Salmonella w mleku i wybranych produktach mlecznych. *Post. Microbiol.* 1991, **31**, 33-43.
56. Gudmundson J., Chirifni-Trejo J.M.: A cause of bovine mastitis caused by Campylobacter jejuni. *Zentralbl. Veterinärmed. B* 1992, **40**, 326-328.
57. Lander K.P., Gill K.P.: Experimental injection of the bovine udder with Campylobacter coli/jejuni. *J. Hyg. (Lond.)*, 1980, **84**, 421-428.
58. Doyle M.P., Roman D.J.: Prevalence and survival of Campylobacter jejuni in unpasteurized milk. *Appl. Environ. Microbiol.* 1982, **44**, 1154-1158.
59. Schildt M., Savolainen S., Hanninen M.L.: Long-lasting Campylobacter jejuni contamination of milk associated with gastrointestinal illness in a farming family. *Epidemiol. Infect.* 2006, **134**, 401-405.
60. Hutchinson D.N., Bolton F.J., Hinchliffe P.M., Dawkins H.C., Horsley S.D., Jessop E.G., Robertshaw P.A., Counter D.E.: Evidence of udder excretion of Campylobacter jejuni as the cause of milk-borne campylobacter outbreak. *J. Hyg. (Lond.)*, 1985, **94**, 205-215.
61. Orr K.E., Lightfoot N.F., Sisson P.R., Harkis B.A., Twedde J.L., Boyd P., Carroll A., Jackson C.J., Wareing D.R., Freeman R.: Direct milk excretion of Campylobacter jejuni in a dairy cow causing cases of human enteritis. *Epidemiol. Infect.* 1995, **114**, 15-24.
62. Low J.C., Donacis W.: A review of Listeria monocytogenes and listeriosis. *Vet. J.* 1997, **153**, 9-29.
63. Bourry A., Poutrel B., Rocourt J.: Bovine mastitis caused by Listeria monocytogenes: characteristics of natural and experimental infections. *J. Med. Microbiol.* 1995, **43**, 125-132.
64. Winter P., Schlicher F., Bago Z., Schoedwer D., Egerbacher M., Baumgartner W., Wagner M.: Clinical and histopathological aspects of naturally occurring mastitis caused by Listeria monocytogenes in cattle and ewes. *J. Vet. Med. B* 2004, **51**, 176-179.
65. Vishinsky Y., Grinberg A., Ozery R.: Listeria monocytogenes udder infection and carcasses contamination. *Vet. Rec.* 1993, **133**, 484-485.
66. Srinivasan V., Nam H.M., Nguyen L.T., Tamilselvan B., Murinda S.E., Oliver S.P.: Prevalence and antimicrobial resistance in Listeria monocytogenes isolated from dairy farms. *Foodborne Path. Dis.* 2005, **2**, 201-211.
67. Wiedmann M.: ADISA Foundation Scholar Award - An integrated science-based approach to dairy food safety: Listeria monocytogenes as a model system. *J. Dairy Sci.* 2003, **86**, 1865-1875.
68. Farber J.M., Peterkin P.I.: Listeria monocytogenes, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.* 1991, **55**, 476-511.
69. MacDonald P.D., Whitwam R.E., Boggs J.D., MacCormack J.N., Anderson K.L., Rardon J.W., Saah J.R., Graves L.M., Hunter S.B., Sobel J.: Outbreak of listeriosis among Mexican immigrants as a result of consumption of illicitly produced Mexican-style cheese. *Clin. Infect. Dis.* 2005, **40**, 677-682.
70. Holm C., Jepsen L., Larsen M., Jespersen L.: Predominant microflora of downgraded bulk tank milk. *J. Dairy Sci.* 2004, **87**, 1151-1157.
71. Svensson B., Monthan A., Shaheen R., Andersson M.A., Salkinoja-Salonen M., Christiansson A.: Occurrence of emetic toxin producing Bacillus cereus in the dairy production chain. *Inter. Dairy J.* 2006, **16**, 740-749.
72. Tittarelli M., Diventura M., De Massis F., Scaccia M., Giovannini A., Nannini D., Caporale V.: The persistence of Brucella melitensis in experimentally infected ewes through three reproductive cycles. *J. Vet. Med. B* 2005, **52**, 403-409.
73. Mishal J., Ben-Israel N., Levin Y., Sherf S., Jafari J., Embon E., Sherer Y.: Brucellosis outbreak: analysis of risk factors and serologic screening. *Int. J. Mol. Med.* 1999, **4**, 655-658.
74. Namiduru M., Gungor K., Dikensoy O., Baydar I., Ekinci E., Karaoglan I., Bekir N.A.: Epidemiological, clinical and laboratory features of brucellosis: a perspective evaluation of 120 adult patients. *Int. J. Clin. Pract.* 2003, **57**, 20-24.
75. Bannermann D.D., Chockalingam A., Paape M.J., Hope J.C.: The bovine innate response during experimentally-induced Pseudomonas aeruginosa mastitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2005, **107**, 201-215.
76. Kirk J.H., Barlett P.C.: Pseudomonas aeruginosa mastitis in a dairy herd. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1984, **184**, 671-673.
77. Hicks C.R., Eberhart R.J., Erskine R.J., Spencer S.B.: Interactions between Pseudomonas aeruginosa and iodophor germicides in milking parlor udder wash water system. *Appl. Environ. Microbiol.* 1991, **57**, 568-572.
78. Daly M., Power F., Bjorkroth J., Sheehan P., O'Connell A., Kolgan M., Korkeala H., Fanning S.: Molecular analysis of Pseudomonas aeruginosa: epidemiological investigation of mastitis outbreaks in Irish dairy herds. *Appl. Environ. Microbiol.* 1999, **65**, 2723-2729.
79. Gras-Le Guen C., Lepelletier D., Ddebillon T., Gournay V., Espaze E., Roze J.C.: Contamination of a milk bank pasteurizer causing a Pseudomonas aeruginosa outbreak in a neonatal intensive care unit. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* 2003, **88**, 534-535.
80. Lassa H., Malinowski E.: Aktywność enzymatyczna drożdżaków i alg wyizolowanych z wydzielin zapalnej gruczołu mlekowego krów. *Medycyna Wet.* 2005, **61**, 673-675.
81. Pfaller M.A., Diekmann D.J.: Unusual fungal and pseudo-fungal infections in humans. *J. Clin. Microbiol.* 2005, **43**, 1495-1504.
82. Lorenz H., Jäger C., Willems H., Baljer G.: PCR detection of Coxiella burnetii from different clinical specimens, especially bovine milk, on the basis of DNA preparation with a silica matrix. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998, **64**, 4234-4237.
83. Maurin M., Raoult D.: Q fever. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999, **12**, 518-533. **86**, 1865-1875.

Prof. dr hab. Edward Malinowski, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Państwowy Instytut Weterynaryjny - Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Bydgoszczy, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, e-mail: vetri@logonet.com.pl