

двора (II, c, 8, табл. V) в сравнении со скотом вакцинированным (II, d, табл. V), при разнице существенной статистически. При исследовании же подобных групп скота но реагирующего положительно в агглютинации, реакция антиглобулиновая повышает титр у скота зараженного и вакцинированного в подобном проценте случаев (II, d; II, h, табл. V). Из описанных исследований можно заключить, что при исследовании скота (анамнез неизвестен) результаты антиглобулиновой реакции могут быть предпосылкой:

А) подозрения заражения в случае, когда эта реакция повышает посылительно отрицательный агглютинационный титр;

Б) для определения поствакцинального состояния в случае, когда нет повышения существующего уже агглютинационного титра. У здорового скота ни одна из применяемых реакций не была положительной (I, II, h, табл. V).

Wiśniowski J., Romaniukowa K., Drożdżyńska M. -- **Some Observations on the Antiglobulin test in Serological Diagnosis of Bovine Brucellosis.**

592 sera of cattle were investigated: (see table: a—d) from infected herds, 284 head; (e—h) vaccinated with Buck S-19 vaccine, 135 head; (i—m) with unknown anamnesis, 151 head; and (n) healthy, 22 head. In these investigations there was performed an antiglobulin test (description of method in full text) and a rotate test (the same technique therefore without the use of antiglobulin serum). The investigations were made in two series; in the first one (I) in the antiglobulin test was used antiglobulin serum titrated only with the tube precipitation test; in the second one (II) the antiglobulin serum was titrated with human erythrocytes Rh+. Serum from rabbits immunized with full bovine serum was used. The results were analysed statistically and set out in a table.

A statistically significant difference was found between the results received from the antiglobulin

test and the rotate test to the advantage of the former (II, 8, 11). The antiglobulin test cannot be replaced by the rotate test in those cases in which the antiglobulin serum is titrated with erythrocytes Rh+.

The antiglobulin test has great value in diagnosis as it can change the serological results obtained with tube agglutination from a negative to positive (titer 1:50 or higher) and it is also useful in the interpretation of doubtful titers (1:25); (II, 5—9). The best results were obtained when investigating cattle reacting negatively from infected herds. In these cases the percentage of false negative results in the tube agglutination test appears as 40,5%, and the increase of titers was from — 1 to 11 grades of dilutions (II, c, 5, 8, 9). The complement fixation test was helpful in the designation of infection of herds besides bacteriological examinations.

It was shown that the percentage of cases with increased titers (in the antiglobulin test) is greater and statistically significant in the group of cattle from infected herds (II, c, 9) than in that from vaccinated cows (II, g) when examining negatively reacting cattle.

There was no significant difference in the antiglobulin test between the results when the cows were investigated with positive agglutination from both the above-mentioned groups (II, d; II, h).

From the investigations described the following conclusion: can also be drawn when examining the cattle with unknown anamnesis (II, l, m) the results of the antiglobulin test may be:

a premise for the suspicion of an infection by cows negatively reacting in agglutination if they cause a multiple-grade increase of titer.

or a statement of post-vaccination reaction when, in cows positively reacting in agglutination, there appears no increase of titer.

In healthy cows no positive results were observed in either of the tests (II, n).

STANISŁAW WOŁOŻYŃ, JAN KRZYŻANOWSKI, TADEUSZ ZIOŁO

## Badania nad drożdżycami gruczołu mlecznego (*Mastitis blastomycetica*) krów

Z Katedry Epizootiologii Wydziału Wet. WSR w Lublinie  
Kierownik: prof. dr STANISŁAW KRAUSS

Z Katedry Anatomii Patologicznej Wydziału Wet. WSR w Lublinie  
Kierownik: prof. dr TADEUSZ ZULIŃSKI

Z Katedry Położnictwa Wydziału Wet. WSR w Lublinie  
Kurator: doc. dr STANISŁAW TARKIEWICZ

Rola drożdżaków jako potencjalnych czynników chorobotwórczych powszechnie występujących w przyrodzie była do niedawna w patologii zwierzęcej niedoceniana i stosunkowo słabo opracowana zarówno pod względem epizootologicznym jak terapeutycznym. W ostatnim dziesięcioleciu w piśmiennictwie fachowym znaleźć można wiele prac i doniesień omawiających to zagadnienie (1—8, 10—14). Prawie wszyscy autorzy wskazują na ścisły związek coraz częściej występujących chorób grzybiczych zwierząt z powszechnym obecnie stosowaniem antybiotyków w lecznictwie i żywieniu. Wysuwa się przypuszczenie, że antybiotyki mogą sprzyjać rozmnażaniu się drożdżaków bezpośrednio przez wytworzenie stanu nadwrażliwości, lub na drodze pośredniej przez hamowanie rozwoju lub eliminację bakterii antagonicznych dla *Candida*. Poza tym wtórne zakażenia drożdżakami pojawia-

ją się u osobników z silnie zachwianą odpornością ogólną w przebiegu ciężkich, wyniszczających chorób. U bydła najczęściej notowane są drożdżyce błon śluzowych jamy gębowej nowo narodzonych cieląt, a poza tym u krów dorosłych drożdżyce narządowe, szczególnie gruczołu mlecznego. Pierwsze doniesienia o zapaleniach wymion wywołanych przez drożdżaki i inne grzyby pochodzą z roku 1934 (1). Od tego czasu opisano 430 przypadków sporadycznych oraz 13 enzootii zapalení wymion na tle grzybiczym, z których jedna objęła 106 krów (1, 7). Jak podaje *Ainsworth* (1) zachorowania te spostrzegane były masowo w stadach krów, którym podawano antybiotyki celem likwidacji bezobjawowego nosicielstwa *Str. agalactiae*, a sporadycznie po insuflacjach wymienia. Wśród grzybów chorobotwórczych uważanych za czynniki przyczynowe najczęściej wymieniane są drożdżaki

(*Cryptococcus neoformans*, *Candida tropicalis*, *C. pelliculosa*, *C. krusei*, *C. albicans* i inne), a poza tym promieniowce i pleśniowce (*Noctuidia asteroides*, *Aspergillus fumigatus*). Najcięższy przebieg kliniczny i największe niebezpieczeństwo pod względem sanitarnym przedstawiają zapalenia wymion spowodowane przez *Cryptococcus neoformans*, który wywołuje u ludzi bardzo niebezpieczną, zwykle kończącą się zejściem śmiertelnym, drożdżycę centralnego układu nerwowego lub płuc zwane chorobą Busse Buschkego. Zapalenie wymion na tle infekcji drożdżaków z gatunku *Candida* cechuje wprawdzie o wiele łagodniejszy obraz kliniczny ale siewstwo tego zarazka z mlekiem utrzymuje się dość często przez 3 do 4 miesięcy po ustąpieniu ostrych objawów chorobowych (1, 10). W piśmiennictwie polskim nie spotkano dotychczas opisów zapalenia gruczołu mlecznego na tle grzybiczym. Bodźcem do podjęcia badań w tym kierunku było kilkakrotne wyizolowanie drożdżaków z przypadków zapaleń wymion opornych na leczenie różnymi antybiotykami.

#### BADANIA WŁASNE

Badania własne oparto na obserwacjach klinicznych 8 przypadków terenowych, w których drożdżycę wymion u krów rozpoznano na podstawie kilkakrotnie powtórzonych dodatnich posiewów. Bakteryjne tło schorzenia w wymienionych przypadkach zostało wykluczone. Ponadto w trzech przypadkach wyosobniono hodowlanie drożdżaki jako florę towarzyszącą zakażeniom bakteryjnym. Typowanie wyizolowanych szczepów przeprowadzono wg systematyki Loddera i Kregera Van Rijja (1952) w oparciu o metodykę podaną przez Polemana (9). Wstępne obserwacje nad leczeniem drożdżycy wymienia przeprowadzono u 7 krów. Celem dokładniejszego przesiedzenia obrazu klinicznego i potwierdzenia roli etiologicznej drożdżaków dwa z wyizolowanych szczepów użyto do zakażenia krów doświadczalnych. Do zakażenia wybrano 4 krowy, wolne od gruźlicy o dość dobrej kondycji i średniej mleczności. Poza badaniami klinicznymi, mykologicznymi wykonano badania histopatologiczne wycinków wymion zarówno z przypadków terenowych jak i krów z drożdżycą wywołaną doświadczalnie.

#### I. Obserwacje nad drożdżycami wymion krów zakażonych w warunkach naturalnych

Przypadek 1. Dnia 4.V.1962 r. zgłoszono do Kliniki Położniczej krowę czarno-białą lat 9 z objawami zapalenia prawej tylnej ćwiartki wymienia. W wywiadzie ustalono, że krowa w ciągu ostatnich 6 miesięcy była dwukrotnie leczona w tutejszej klinice z powodu cstrych stanów zapalnych tylnych ćwiartek wymienia, wywołanych przez *E. coli*. Po dowymienionych wlewach 0,5% roztworu chloromycetyny zarówno objawy miejscowe jak i ogólne szybko usta-

piły. Po upływie około 3 tygodni od drugiego zchorowania właściciel zauważył ponowne powiększenie się prawej tylnej ćwiartki i stopniowy zanik wydzielniczości mleka.

Oglądaniem stwierdzono dość znaczny obrzęk prawej tylnej ćwiartki wymienia. Skóra na chorej ćwiartce wiotka o nie podwyższonej ciepłocie zewnętrznej. Przy palpacji łatwo można było stwierdzić tęgie guzowate stwardnienia tkanki gruczołowej w okolicy zatoki mlecznej. Wydzielina z chorej ćwiartki skąpa, gęsta, żółtawo-szara o odczynie zasadowym. Objawów ogólnych brak. Dwukrotnie powtórzone badanie bakteriologiczne mleka z chorej i pozostałych ćwiartek wymienia nie wykazało wzrostu bakterii powodujących zakaźne zapalenie wymion u krów. Dopiero w trzecim dniu wylegania posiewów w 37° stwierdzono na podłożach agarowych z krwią powolny wzrost szaro białych, matowych kolonii, które mikroskopowo rozpoznano jako blastospori drożdżaków. Dla potwierdzenia rozpoznania posiewy powtórzono jeszcze dwukrotnie, przy czym na podłożach Sabourauda otrzymano każdorazowo obfitą, czystą kulturę drożdżaków. Z uwagi na to, że klinicznie zapalenie to przypominało proces gruźliczy przeprowadzono w tym kierunku badania. Tuberkulinizacja porównawcza dała wynik negatywny. Badanie bakterioskopowe i hodowlane mleka nie wykazało obecności prątków gruźlicy. Próba biologiczna na śwince morskiej, którą zakażono do fałdu kolanowego zawiesiną osadu mleka z kilku kolejnych dni wypadła negatywnie. Z uwagi na niską wartość użytkową zwierzęcia i brak zgody właściciela na proponowane leczenie, krowę skierowano do uboju, a do badań histopatologicznych pobrano skrawki z ćwiartki zajętej procesem chorobowym oraz z pozostałych zdrowych.

Przypadek 2. W czerwcu 1963 r. przesłano do Katedry Epizootologii dwie próbki mleka od krowy chorującej z objawami przewlekłego zapalenia wymienia opornego na leczenie antybiotykami. Dostarczone próbki zawierały surowiczą, ciągliwą wydzielinę, koloru jasno-żółtego z bardzo obfitym osadem, który składał się z szaro-żółtawych grudek włókniaka. Odczyn wydzieliny zasadowy (pH — 8,6). Próba na katalazę dodatnia. Metodą hodowlaną na podłożach z krwią baranią oraz Sabourauda stwierdzono czystą kulturę drożdżaków (nr bad. 188/63). W wywiadzie ustalono, że objawy zapalne prawej tylnej ćwiartki wystąpiły w 6 dniu po porodzie. Po dowymieniomym podaniu penicyliny nastąpiła kilkudniowa poprawa, a po dalszych 7 dniach zaobserwowano ponowne wystąpienie obrzęku najpierw w ćwiartce uprzednio zajętej, a następnie również w prawej przedniej. Lekarz wet. miejscowego PZLZ zastosował dwukrotnie dowymieniowo chloromycetynę, co spowodowało wyraźne pogorszenie i zaostrenie objawów miejscowych. Z uwagi na brak wyników leczenia oraz wysoka wartość użytkową krowy (mleczność ok. 20 l. dziennie) zwrócono się w tej sprawie do Katedry Epizootologii.

Badanie kliniczne przeprowadzone na miejscu wykazało podwyższenie ciepłoty wewnętrznej do 39,8°, tętno i oddechy w granicach normy, apetyt i przeżuwanie zachowane. Objawy miejscowe zbliżone do opisywanych uprzednio, tylko znacznie silniej wyrażone. Skóra na zajętych ćwiartkach nie wykazuje makroskopowo cech zapalnych, jest lekko napięta, ale przesuwalna względem podłoża. Przy palpacji wyczuwano się dość zbita konsystencja i wyraźnie sznurowate stwardnienia tkanki gruczołowej w okolicy zatoki mlecznej obydwu chorych ćwiartek. Prawy nadwymieniowy węzeł chłonny wyczuwalny, wyraźnie powiększony. Ponadto u cielęcia, które przez pewien czas ssało krowę, stwierdzono plamiste przekrwienia i drobne białawe naloty na błonie śluzowej jamy ustnej. Zalecono przerwanie leczenia krowy antybiotykami, oddzielenie i sztuczne karmienie cie-



lęcia mlekiem od krowy zdrowej. Cielęciu wstrzyknięto parenteralnie witaminy A (300 tys. j. m.) i C (500 mg) oraz zastosowano pędzlowanie błon śluzowych jamy gbowej 20% roztworem boraksu w glicerynie, co spowodowało ustąpienie objawów miejscowych już 3 dnia od rozpoczęcia leczenia. Krowie podano jednorazowo witaminę C (1000 mg) i Calcium boro-gluconatum (100 ml) oraz doustnie przez okres 14 dni Kalium jodatum po 10,0 dziennie. W tym czasie chore ćwiartki zdajano 5 do 6 razy dziennie. Wyniki leczenia kontrolowano klinicznie i drogą posiewów. Po upływie tygodnia stwierdzono ustąpienie obrzęku, pozostały jednak guzowate stwardnienia tkanki gruczołowej zwłaszcza w ćwiartce tylnej. Mleko z chorych ćwiartek gęste, o wyraźnym żółtawym odcieniu. Powrót do normalnej wydzielniczości był stopniowy i stosunkowo powolny. Dopiero po 2 tygodniach od rozpoczęcia leczenia mleko makroskopowo nie wykazywało żadnych zmian. Ponieważ jednak posiewy mleka z ćwiartki tylnej prawej wykazywały jeszcze wzrost pojedynczych kolonii drożdżaków, leczenie tym samym środkiem powtórzone przez dalszych 14 dni, co doprowadziło do zaniku siewstwa. W tym czasie jedynym śladem przebytego zapalenia było pojedyncze guzowate stwardnienie tkanki gruczołowej i obniżona o ok. 1/4 wydzielniczość ćwiartki tylnej prawej w porównaniu z ćwiartką tylną lewą, co utrzymało się przez cały okres laktacji.

Przypadki od 3 do 8. (nr ks. bad.: 236/63, 444/63, 446/63, 19/64, 33/64, i 52/64). Przypadek trzeci dotyczył pierworódki, u której ostry stan zapalny lewej przedniej ćwiartki połączony z obrzękiem podbrzusza zaobserwowano w piątym dniu po porodzie. Przeprowadzone dwukrotnie badanie laboratoryjne mleka pozwoliło na wykluczenie bakteryjnego tła i stwierdzenie drożdżycy wymienia. Jak ustalono w wywiadzie lub drogą obserwacji własnych pozostałe przypadki wystąpiły po kilku lub kilkunastu dniach od leczenia antybiotykami (detreomycyna) zapalenia wymion na tle infekcji paciorkowcami lub pałeczka określony. Nawroty schorzenia objawiały się zanikiem mleczności z leczonych ćwiartek, następnie wystąpieniem miernego obrzęku i stwardnień tkanki gruczołowej. Ponowne podawanie antybiotyków albo nie dawało żadnej poprawy, albo powodowało zaostrzenie się procesu chorobowego. Przeprowadzone w tym czasie badania bakteriologiczne i mykologiczne pozwoliły na rozpoznanie drożdżycy wymienia. Postępowanie lecznicze we wszystkich przypadkach polegało na wstrzymaniu podawania antybiotyków, częstym zdajaniu i doustnym stosowaniu jodku potasu przez okres 14 dni w dawkach dziennych od 5,0 do 10,0 zależnie od wagi krowy. Wyniki leczenia kontrolowano klinicznie i laboratoryjnie. Po 3 tygodniach w czterech przypadkach stwierdzono klinicznie ustąpienie zmian i brak siewstwa drożdżaków. W pozostałych dwóch zaobserwowano tylko ustąpienie obrzęku, utrzymało się natomiast stwardnienie tkanki gruczołowej i wydzielanie drożdżaków mimo braku makroskopowo dostrzegalnych zmian w mleku. Powtórzone leczenie dało wynik dodatni u jednej krowy, natomiast u drugiej doszło do zwłóknienia tkanki gruczołowej zajętej ćwiartki i całkowitego zaniku mleczności. Trzykrotne badania mikroskopowe i hodowlane mleka od tych sztuk na obecność prątków gruźlicy dały wynik negatywny. Warto podkreślić, że wszystkie krowy objęte obserwacją pochodziły z obór wolnych od gruźlicy i cechowała je dość wysoka mleczność.

Poza opisanymi, stwierdzono metoda hodowlana jeszcze w trzech próbkach mleka od krow chorujących z objawami przewlekłego zapalenia wymion obecność drożdżaków, które towarzyszyły w dwóch przypadkach zakażeniom gronkowcowym (*Staph. aureus*) oraz w jednym infekcji paciorkowcowej (*Str. agalactiae*). Jak ustalono, krowy te leczone by-

ły najpierw penicyliną, a następnie streptomycyną bez widocznych rezultatów. Ponieważ jednak wyizolowane szczepy bakteryjne okazały się *in vitro* odporne na penicylinę i słabo wrażliwe na streptomycynę przyjęto, że negatywny wynik leczenia mógł być wynikiem stosowania nieodpowiednich antybiotyków. Infekcję drożdżakami potraktowano w tych przypadkach jako uboczną. Dalszych obserwacji nad dwoma pierwszymi krowami nie poczyniono, ponieważ zostały one w międzyczasie usunięte z powodu jałowości i znacznego zaniku mleczności. U krowy z mieszaną infekcją paciorkowce-drożdżaki zalecono dowymieniowo polisulfamid przez kolejne 3 dni, a jednocześnie parenteralnie witaminę C oraz glukonian wapnia, co pozwoliło na likwidację procesu chorobowego, potwierdzoną później negatywnymi posiewami.

## II. Wyniki badań mykologicznych

Do posiewów bezpośrednich z osadu i śmietanki używano podłoży stałych Sabourauda oraz Grütza bez antybiotyków, jak również z dodatkiem penicyliny w ilości 50 j. m. i streptomycyny w ilości 50 j. na 1 ml pożywki. Podłoża te inkubowano przez 3 do 5 dni w 25 i 37°. Jednocześnie te same próbki posiewano na podłoże agarowe z krwią baranią i inkubowano je w warunkach tlenowych w 37° dla wykluczenia lub stwierdzenia obecności bakterii. W dalszych badaniach posługiwano się jednolitymi morfologicznie i czystymi kulturami, co osiągnano metodą rozcieńczeń i ewentualnie pasażami na podłożach agarowych z dodatkiem glicyliny (9). Dla oznaczenia przynależności gatunkowej wyizolowanych kultur do drożdży askosporowych czy też anaskosporowych posiewały je na bloczki gipsowe i agar Gorodkowej (9). Hodowle te inkubowano w 25° i kontrolowano po 2, 4, 6 dniach oraz 2 i 4 tygodniach na obecność worków zarodnikonośnych. W tym celu sporządzono preparaty i barwiono je metodą Kufferatha oraz metodą Möllera (9). Dla kontroli podłoży i metodyki posiewano jednocześnie dwa szczepy wzorcowe *Saccharomyces cerevisiae* (M12 — CBS i G 2 II — UP) otrzymane z kolekcji IHAR w Bydgoszczy, które dawały typowe worki zarodnikonośne (asci). Zdolność wytwarzania grzybni rzekomej (*pseudomycelium*), grzybni prawdziwej (*mycelium*) oraz chlamydospor badano w mikro i makrohodowli na podłożach agarowych z ryżem wg *Taschdjiana* (9) oraz w hodowli klutej na agarze z żółcią bydłęca wg *Littmana* (9), które inkubowano 2 do 4 dni w 36°. Preparaty natywne i mazane barwiono metodą Grama oraz metodą PAS. Dla określenia właściwości fermentacyjnych (tzw. zymogramu) posługiwano się podłożami płynnymi wg *Wickerhama* i *Burtona* (9) z 2% zawartością poszczególnych cukrów. Jednocześnie wykonywano tzw. auksanografię każdego szczepu na podłożach płynnych i stałych celem określenia zdolności asymilacyjnych dla cukrów i azotanu potasu (KNO<sub>3</sub>) wg metodyki podanej przez *Polemana* (9). Wyniki odczytywano po 2, 4 dniach oraz 2 i 4 tygodniach. Zdolność wykorzystania C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH, rozkładania arbutyny oraz loju bydłęcego badano na podłożach i wg metodyki podanej przez *Polemana* (9). Wszystkie wymienione oznaczenia biochemiczne powtórzone dla każdego szczepu dwukrotnie. Użyte podłoża kontrolowano za pomocą szczepów wzorcowych: *Candida albicans* otrzymany z Katedry Mykologii AM w Poznaniu oraz *Rhodotorula glutinis* R 15 — WSRL otrzymany z kolekcji IHAR w Bydgoszczy. Wyniki oznaczeń przedstawiono na tab. 1. Jak widać, na osiem przypadków drożdżycy gruczołu mlecznego wyizolowano trzykrotnie *Candida pseudotropicalis*, dwukrotnie *C. albicans* oraz jednorazowo *C. krusei*, *C. tropicalis*, oraz *Saccharomyces fragilis*. Ponadto w trzech przypadkach zapalenia wymienia

Tab. 1. Wyniki oznaczenia szczepów drożdżowców z przypadków zapaleń gruczołu mlecznego krów

Nr szczepu	Askospory	Chlamydospory	Mycelium	Pseudo mycelium							Asymilacja						Rozkład arbutyny	Gatunek i rodzaj	
					Gl	Ga	Sa	Ma	La	Ra	Gl	Ga	Sa	Ma	La	KNO <sub>3</sub>			C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH
1	-	-	-	+	+	(+)	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	((+))	+	<i>Candida pseudotropicalis</i>
2	-	+	+	+	+	(+)	((+))	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	<i>Candida albicans</i>
3	-	+	(+)	+	+	+	-	+	-	-	+	+	(+)	+	-	-	-	-	<i>Candida albicans</i>
4	-	-	(+)	+	+	+	+	+	-	(+)	+	+	+	+	-	-	((+))	((+))	<i>Candida tropicalis</i>
5	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	(+)	((+))	<i>Saccharomyces fragilis</i>
6	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	(+)	-	<i>Candida krusei (parakrusei)</i>
7	-	-	-	+	+	+	+	-	+	(+)	+	+	+	-	+	-	(+)	(+)	<i>Candida pseudotropicalis</i>
8	-	-	-	+	+	(+)	+	-	+	+	+	-	+	((+))	+	-	+	+	<i>Candida pseudotropicalis</i>
9	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	((+))	-	<i>Candida krusei</i>
10	-	-	-	-	(+)	-	(+)	-	-	-	+	(+)	+	(+)	((+))	-	(+)	+	<i>Torulopsis candida</i>
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	(+)	-	-	-	-	-	Szczep nieoznaczony

Objaśnienia: nr 1 do 8 = szczepy z przypadków drożdżycy wymienia nr 9 do 11 = szczepy drożdżaków wyizolowane jako flora towarzysząca

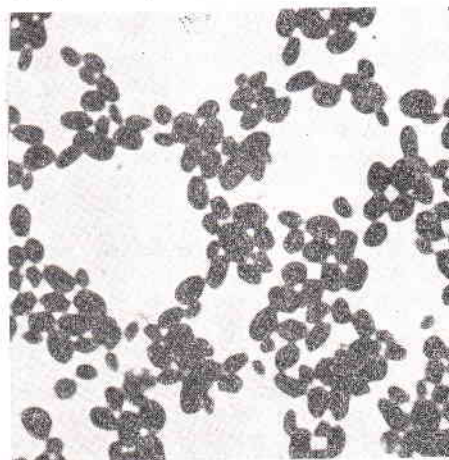
Gl = glukcza  
Ga = galaktoza  
Sa = sacharoza  
Ma = maltoza  
La = laktoza  
Ra = rafinoza

Określenie próby  
+ = dodatnia  
(+) = słaba  
((+)) = b. słaba  
- = negatywna

stwierdzono *Candida krusei*, *Torulopsis candida* oraz jeden szczep nie oznaczony jako florę towarzyszącą zakażeniom bakteryjnym. Szczep określony jako nieoznaczony pod względem morfologicznym (okrągłe blastospory, pączkowanie wieloboczne, brak pseudomycelium, żółtawe zabarwienie kolonii) odpowiadał gatunkowi *Torulopsis*, do którego należy szereg tzw. dzikich drożdży stanowiących często zanieczyszczenia przemysłowe. Jednak brak właściwości fermentacyjnych i słabe zdolności asymilacyjne nie pozwoliły na zaszeregowanie go do rodzajów uważanych za fakultatywnie chorobotwórcze. A więc wśród trzech wyosobnionych szczepów tylko jeden *C. krusei* należał do patogennych. Warto podkreślić, że *C. krusei* towarzyszący infekcji gronkowcowej cechował się wybitnie szorstkim wzrostem. Natomiast szczep *C. krusei* wyhodowany w czystej kulturze z przypadku nr 6 wykazywał wprawdzie te same właściwości biochemiczne, ale wyrastał w pierwszych pasażach w postaci gładkich, lśniących kolonii, co wg Conanta i Smitha jest typowe dla *C. parakrusei*. Cechy morfologiczne i poszczególne fazy wzrostowe drożdżaków przedstawiono na fot. od 1 do 6.

Wyizolowane szczepy z gatunku *Candida* przebadano *in vitro* na wrażliwość na mykostatynę. Użyto antybiotyku produkowanego przez Krakowskie Zakł. Farm. „Pofa” pod nazwą nystatyna. Oznaczenia potwierdzono trzykrotnie na podłożach stałych. Jako kontrolę przyjęto szczep wzorcowy *Candida albicans*. Przeprowadzone *in vitro* badania nad wrażliwością na nystatynę wyizolowanych drożdżaków z gatunku *Candida* wykazały, że wzrost szczepów *C. albicans* i *C. guilliermondii* był hamowany już przy stężeniu 10 $\gamma$ /ml pożywki, co pozwala je określić jako wyso-

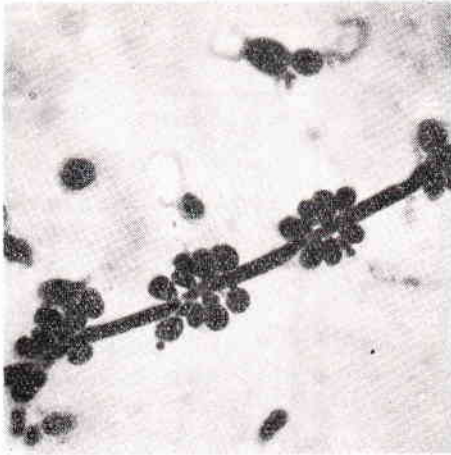
ce wrażliwe na ten antybiotyk. Szczep *C. krusei*, *C. pseudotropicalis* i *C. tropicalis* były całkowicie hamowane dopiero przy stężeniu 50 $\gamma$ /ml pożywki, przy czym te dwa ostatnie przy niższych stężeniach nystatyny (10 i 20 $\gamma$ /ml) rosły w postaci szorstkiej.



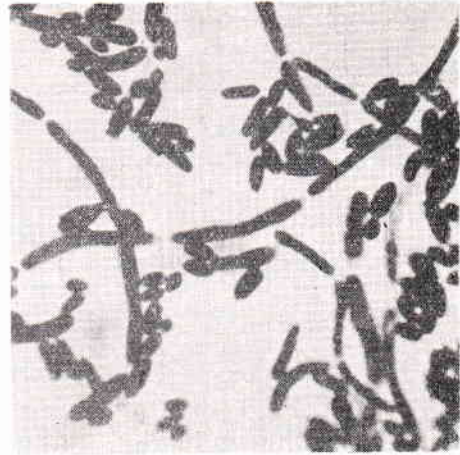
Fot. 1. *Candida albicans* — blastospory  
Preparat z osadu mleka

Obydwa wyizolowane szczepy *Candida albicans* powodowały zejścia śmiertelne królików po 48 i 78 godzinach od zakażenia dawką 0,1 ml 24-godzinnej hodowli bulionowej. Króliki zakażone zawiesiną hodowli bulionowej *C. pseudotropicalis* i *C. tropicalis* poza przemijającym osowieniem nie wykazały żadnych objawów chorobowych.

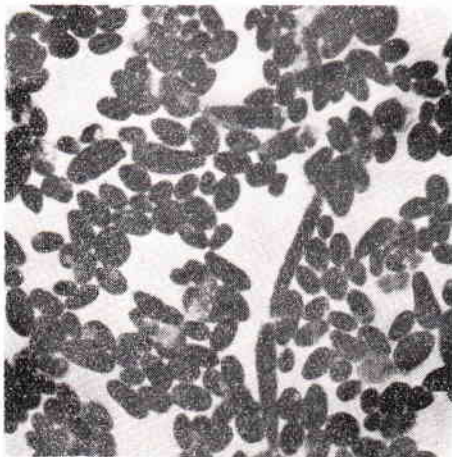




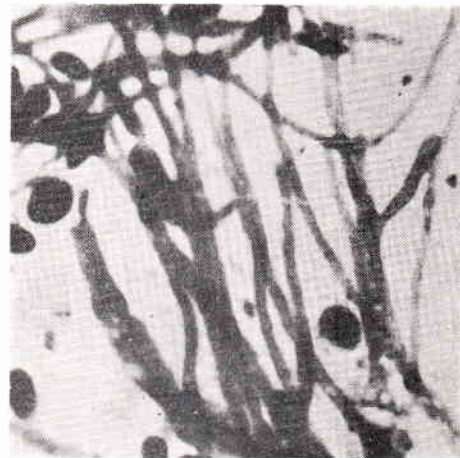
Fot. 2. *Candida albicans* — pseudomycelium  
Preparat z hodowli i chlamydospory



Fot. 4. *Candida pseudotropicalis* — pseudomycelium  
i blastospory  
Preparat z hodowli



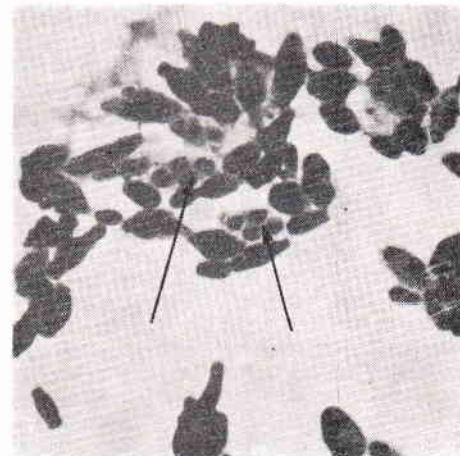
Fot. 3. *Candida pseudotropicalis* — blastospory  
Preparat z osadu mleka



Fot. 5. *Candida tropicalis* — mycelium, blastospory  
Preparat z hodowli

### III. Badania nad zapaleniami wymion u krów zarażonych sztucznie drożdżakami

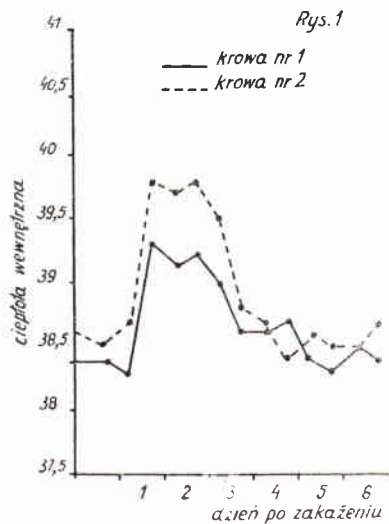
Do doświadczenia użyto krów tuberkulinoujemnych, u których dobowe wahania ciepłoty wewnętrznej pozostawały w granicach fizjologicznych oraz trzykrotnie powtórzone badania mikroskopowe i hodowlane mleka dały wyniki negatywne. Celem dokładnego prześledzenia obrazu klinicznego i poczynienia obserwacji nad siewstwem drożdżaków, krów doświadczalnych nie leczono. Do zakażenia krów doświadczalnych użyto szczepów wyizolowanych z przypadków terenowych. Krowę nr 1 zakażono szczepem *Candida albicans*, a krowę nr 2 szczepem *C. pseudotropicalis*. Przed zakażeniem krowy dokładnie zdajano, a wymię i jego okolicę myto i odkażano. Zawiesinę drożdżaków w 10 ml jałowego płynu fizjologicznego wprowadzano w ilości 18 milionów komórek do zatoki mlecznej prawej przedniej ćwiartki wymienia przy użyciu strzykawki z kateterem strzykowym. Jednocześnie dla celów kontrolnych do ćwiartki lewej przedniej wprowadzono taką samą ilość jałowego płynu fizjologicznego. Ćwiartki zakażone i kontrolne były zdajane dopiero po upływie 24 godzin. Krowy zakażone poddano przez 3 tygodnie dokładnej obserwacji klinicznej zwracając uwagę zarówno na objawy miejscowe jak i ogólne. Jednocześnie najpierw codziennie, a po tygodniu od zakażenia co 3 dni pobierano mleko ze wszystkich ćwiartek, następnie wirowano je i posiewano



Fot. 6. *Saccharomyces fragilis* — worki zarodnikonośne (asci)  
Preparat odciskowy z hodowli

po 0,1 ml osadu i 0,1 ml śmietanki na podłoża agarowe z krwią oraz podłoża Sabourauda. Posiane podłoża inkubowano w 37 i 25° i kontrolowano po 1, 3, 5 i 7 dniach. Zachowanie się ciepłoty wewnętrznej przedstawia rys. 1. Jak widać, wyraźny wzrost ciepłoty (od 0,8 do 1,1°) stwierdzano już po 18 lub 24 godzinach od zakażenia. Gorączka taka utrzymywała się przez jeden do dwóch dni i następnie stopniowo opadała. W tym czasie poza zanikiem mleka

z ćwiartki zakażonej oraz ogólnym spadkiem mleczności nie spostrzegano innych odczynów ogólnych, apetyt i przeżuwanie były zachowane. Nieznaczny, bolesny obrzęk zakażonej ćwiartki stwierdzono już po 18 godzinach, w następnych dniach pomimo spadku gorączki i częstego zdejmania obrzęk wyraźnie powiększył się. Dość charakterystyczny przy tym był brak odczynu ze strony skóry i węzłów chłonnych nadwymiennych. W pierwszych dniach po zakażeniu wydzielina zakażonej ćwiartki była wodnista, ciągliwa, koloru słomkowego i zawierała bardzo licz-

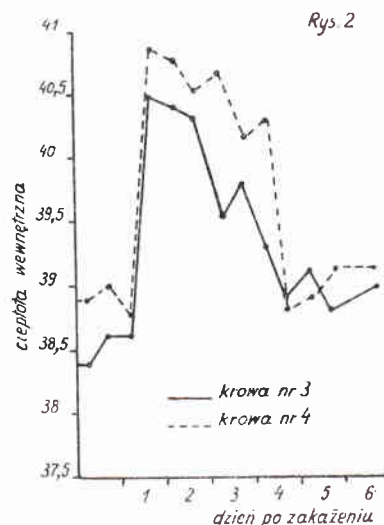


ne grudki ściętego włókniaka, co utrudniało pobieranie próbek. Mniej więcej po tygodniu obrzęk zanikał ale pozostawało wyraźne rozlane stwardnienie tkanki gruczołowej, zwłaszcza w partii środkowej zakażonej ćwiartki. W tym czasie wydzielina z zakażonej ćwiartki przybierała z wolna normalny wygląd, była jednak skąpa, gęsta i zawierała pojedyncze strzępki włókniaka. W trzecim tygodniu obserwacji mleko makroskopowo poza wyraźnym żółtawym odcieniem zmian nie wykazywało. Jednak ilość jego z ćwiartki zakażonej była prawie o połowę niższa niż w przeciwległej zdrowej. Przy fizykalnym badaniu wymienia u krowy nr 1 nie stwierdzono w tym czasie żadnych klinicznie uchwytanych zmian. Natomiast u krowy nr 2 zakażonej *C. pseudotropicalis* pozostało wyraźne guzowate stwardnienie w zakażonej ćwiartce. Ćwiartkę tę amputowano i z miejsc chorobowo zmienionych oraz niezmiennych pobrano wycinki do badań histopatologicznych i posiewów. Proces chorobowy u obydwu krów ograniczył się tylko do ćwiartek zakażonych. Klinicznie w pozostałych ćwiartkach nie zaobserwowano żadnych objawów chorobowych. Dość ciekawie przedstawiały się wyniki posiewów mykologicznych wydzieliny z ćwiartek zakażonych. W ostrej fazie choroby, tj. od pierwszego do 3 lub 5 dnia po zakażeniu, w posiewach zarówno z osadu jak i powierzchni próbki stwierdzono jedynie pojedyncze kolonie drożdżaków, średnio od 8 do 11 na płycie. W następnych dniach ilość kolonii w posiewach dość szybko wzrastała, tak, że po tygodniu od zakażenia była około dziesięciu- lub piętnastokrotnie wyższa, wykazując jednak u tych samych sztuk w poszczególnych dniach duże wahania. U krowy nr 1 pod koniec drugiego tygodnia stwierdzono pojawienie się kolonii szorstkich *C. albicans* i następne posiewy okazały się ujemne. Natomiast u krowy nr 2 do końca obserwacji notowano mniej lub bardziej obfity wzrost *C. pseudotropicalis*. Cechy biologiczne (rozkład i asymilacja cukrów) obydwu drożdżaków wyosobnionych z mleka krów doświadczalnych po 3 i 7 dniach od zakażenia pozostały niezmiennione.

Posiewy kontrolne z ćwiartki zakażonej nie wykazały wzrostu bakterii. Również badanie mikroskopowe i próba biologiczna na śwince morskiej na obecność prątków gruźlicy wypadła negatywnie. Dane te przemawiają za tym, że obserwowany proces zapalny był wynikiem zakażenia drożdżakiem. Posiewy z pozostałych ćwiartek na obecność drożdżaków były negatywne, co świadczy o braku tendencji do naturalnego przenoszenia się na inne ćwiartki.

Następnym dwóm wymieniom, niezależnie od wszystkich uprzednio wymienionych badań, podano w okresie obserwacyjnym przez trzy kolejne dni do wymieniowo do wszystkich ćwiartek antybiotyki. Pierwsza krowa otrzymała chloromycetynę w dawkach dziennych po 0,2 na jedną ćwiartkę, a druga po 100 tys. jedn. penicyliny i 0,2 streptomycyny. Antybiotyki podawano zawsze po wieczornym udaju. Po 3-dniowej przerwie obydwie krowy zakażono w identyczny sposób jak poprzednie. Krowie nr 3 wstrzyknięto zawiesinę *C. albicans*, a krowie nr 4 *C. pseudotropicalis*.

Okazało się, że po takim przygotowaniu wymienia, zarówno objawy miejscowe jak i ogólne w postaci gorączki były znacznie silniej wyrażone. Zachowanie się ciepłoty wewnętrznej przedstawia rys. 2. Jak widać, po 24 godzinach ciepłota wewnętrzna wzrosła o 1,9 do 2,2°, dochodząc do 40,5 i 40,9°, utrzymywała się na tym poziomie przez jeden dzień, następnie spadała do ok. 39° i dopiero trzeciego dnia powróciła do normy. Poza tym, prócz zaniku mleczności oraz słabego apetytu w pierwszym dniu po zakażeniu, innych odczynów ogólnych klinicznie nie spostrzegano. Obrzęk i bolesność zakażonych ćwiartek były o wiele silniejsze niż w grupie poprzedniej. Poza obrzękiem samej ćwiartki, obserwowano nacieczenie tkanki podskórnej na podbrzuszu na przedniej krawędzi zakażonej ćwiartki. Dalszy prze-



bieg i zejście ostrego procesu było wprawdzie trochę wolniejsze, ale klinicznie podobne jak u krów grupy pierwszej. Po ustąpieniu obrzęku można było stwierdzić najpierw rozlane, a później podłużne guzowate stwardnienia tkanki gruczołowej. Pod koniec drugiego tygodnia u krowy nr 3 nastąpiło ponowne zaostrzenie się objawów chorobowych (obrzęk wymienia, wydzielina surowicza z licznymi grudkami włókniaka). W następnych dniach ilość wydzieliny była bardzo skąpa, a jednocześnie spostrzegano wyraźne zanikanie tkanki gruczołowej i znaczne zmniejszenie się objętości zakażonej ćwiartki. Celem pobrania materiału do badań histopatologicznych ćwiartkę amputowano, a krowę po wyleczeniu przekazano na tucź. Po przecięciu podłużnym amputowanej ćwiartki stwierdzono podłużne walcowate

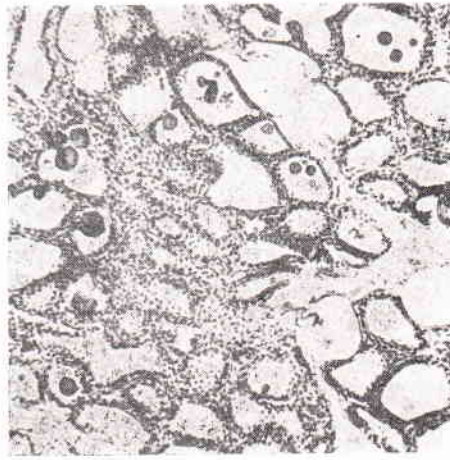


stwardnienia, koloru żółtawo-szarego, umiejscowione w okolicy zatoki mlecznej, które w postaci palczastych rozwidleń wnikały głęboko do przyległej tkanki gruczołowej.

Wyniki posiewów mykologicznych przedstawiały się początkowo podobnie jak w grupie pierwszej. Samoistny całkowity zanik siewstwa drożdżaków z zakażonej ćwiartki u krowy nr 4 stwierdzono dopiero po 7 tygodniach.

#### IV. Badania histopatologiczne

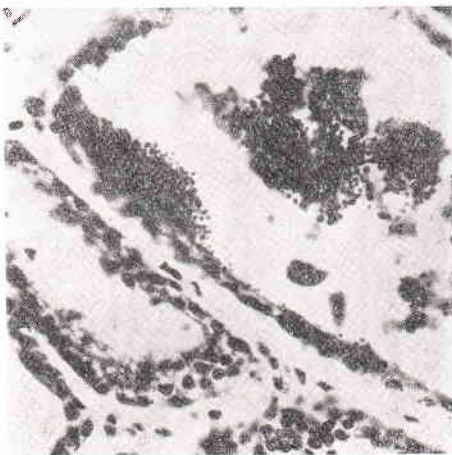
Do badań histopatologicznych pobrano wycinki z gruczołu mlecznego od krowy zakażonej naturalnie oraz z czterech ćwiartek gruczołu od krów zakażonych doświadczalnie. Kontrolę stanowiły wycinki tkanki gruczołowej wymienia z ćwiartek niezakażonych. Preparaty histologiczne sporządzono metodą parafinową oraz na mikrotomie zamrożeniowym. Barwiono błękitem metylenowym, hematoksyliną i eozyną oraz metodą PAS i metodą Dominici. Ponad to preparaty histologiczne ze świeżej nie utrwalonej tkanki gruczołu mlecznego uzyskane na mikrotomie zamrożeniowym badano w stanie nie zabarwionym. W preparatach histologicznych barwionych stwierdza się w świetle pęcherzyków gruczołu mlecznego, będących w różnych okresach wydzielania, pojedyncze lub liczne, różnej wielkości blastospory drożdżaków. Wybarwiają się one w różnych odcieniach, bądź pozostają nie zabarwione. Blastospory bardzo małe, widoczne pod dużym powiększeniem wybarwiają się jednolicie (fot. 7, 8). Blastospory średniej wielkości wybarwiają się na ogół intensywniej w swej obwodowej części (fot. 9). Blastospory duże barwią się



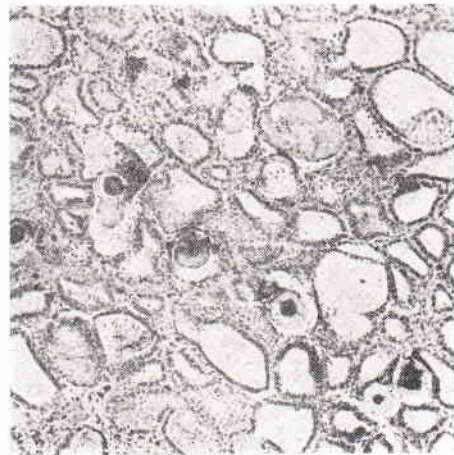
Fot. 9.

tylko w środku lub pozostają w całości nie zabarwione (fot. 10). Środek blastospor dużych ma różną wielkość, wybarwia się jednolicie bądź posiada wygląd ziarnisty.

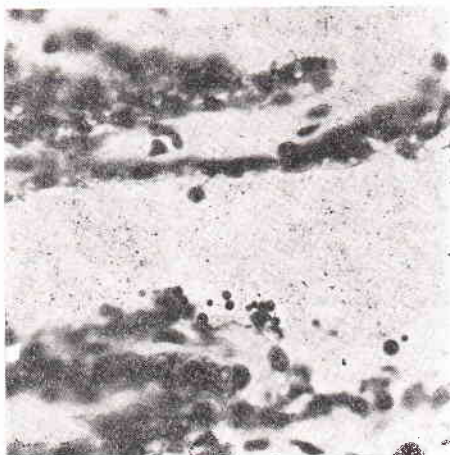
W preparatach histologicznych nie barwionych, sporządzonych ze świeżej tkanki na mikrotomie zamrożeniowym widoczne są blastospory posiadające układ warstwowy: ziarnisty środek, jednorodną plazmę komórkową oraz osłonkę podwójnie załamującą światło (fot. 11). Widoczne są również blastospory nie posiadające układu warstwowego (fot. 11). Stwierdza się również blastospory duże, ulegające rozpa-



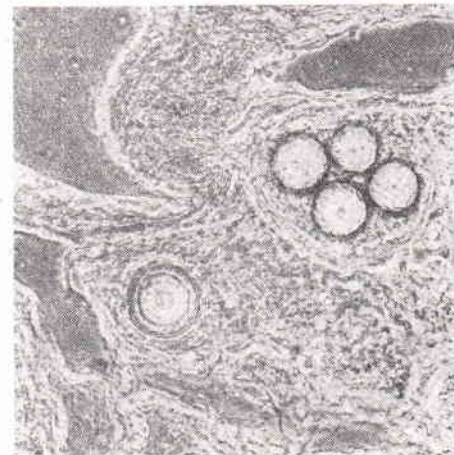
Fot. 7.



Fot. 10.



Fot. 8.



Fot. 11.

dowi. Oprócz blastospor spotykanych w świetle pęcherzyków obserwowano bardzo małe ich postaci w komórkach pęcherzyków gruczołu mlecznego (fot. 11). Występują one pojedynczo lub po kilka. W nielicznych przypadkach wokół blastospor znajdującej się w komórce widoczny jest jasny pierścień, co wyraźnie odcina blastosporę od plazmy komórkowej. Komórki, w których stwierdza się blastosporę ulegają obrzękowi lub rozpadowi (fot. 8). Niejednokrotnie obserwowano duże skupienia bardzo małych blastospor przykrywających zupełnie nabłonek pęcherzyka, tak, że w przypadkach tych trudno ocenić zmiany zachodzące w komórkach (fot. 8). Ponadto widoczny był rozrost tkanki podścieliskowej i zanik pęcherzyków gruczołowych, co prowadzi do zwłóknienia wymienia. Poza wymienionymi, nie stwierdzono innych zmian patologicznych w nabłonku pęcherzyków. Nie spostrzegano również w badanych preparatach w mięszu gruczołu mlecznego tzw. grzybni rzekomej.

### OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Przeprowadzone badania doświadczalne oraz obserwacje kliniczne pozwoliły na uchwycenie pewnych momentów, które można by uznać za charakterystyczne dla zapaleń gruczołu mlecznego wywołanych przez drożdżowce z gatunku *Candida*. W przebiegu choroby, podobnie zresztą jak i przy zapaleniach na tle bakteryjnym można wyróżnić okres ostry, cechujący się wystąpieniem gorączki i silniej lub słabiej zaznaczonymi objawami miejscowymi. Objawy ostre zwykle samoistnie ustępują po 2 lub 3 dniach i schorzenie przechodzi w postać przewlekłą. W tym okresie brak jest odczynów ogólnych, a stwierdzić można jedynie zmiany w mleku i guzowate stwardnienia tkanki gruczołowej w okolicy zatoki mlecznej. Zmiany te albo stopniowo zanikają albo prowadzą do zwłóknienia tkanki gruczołowej, co jak wykazano histologicznie związane jest z rozrostem tkanki podścieliskowej i zanikiem pęcherzyków gruczołowych. Samo nasilenie zmian miejscowych zależne jest w głównej mierze od stopnia wykształcenia i stanu fizjologicznego samego gruczołu. U krów wysokomlecznych i w okresie poporodowym objawy miejscowe są o wiele silniej zaznaczone niż u krów ze słabo rozwiniętym gruczołem mlecznym. Dość charakterystyczna dla obserwowanych drożdżyc wymienia była słaba odczynowość ogólna organizmu w ostrym okresie choroby, gdyż poza niską lub średnią gorączką klinicznie nie spostrzegano innych objawów, jak utrata apetytu, zaburzenia w przeżuwananiu, oraz drgawki mięśniowe, towarzyszących z reguły ostrym zapaleniom na tle bakteryjnym. Poza tym w ostrym okresie choroby w żadnym przypadku nie zaobserwowano odczynu zapalnego ze strony skóry w obrębie zajętej ćwiartki, co zwykle występuje przy ostrych bakteryjnych zapaleniach wymienia. Tłumaczyć to można niską chorobotwórczością i słabym oddziaływaniem antygenowym drożdżaków. Podobnie zresztą i inni autorzy (1, 5, 10) donoszą o la-

godnym przebiegu choroby zwłaszcza przy zakażeniach drożdżakami z gatunku *Candida*. Natomiast zapalenia gruczołu mlecznego wywołane przez *Cryptococcus neoformans* oraz niektóre promieniowce, cechuje ciężki przebieg kliniczny zwykle bez tendencji do samowyleczenia. W sporadycznych przypadkach również warunkowo chorobotwórcze drożdżaki mogą powodować dość ciężkie objawy, prowadzące nawet do powstania ropni jak to opisuje Keith i inni (7) przy drożdżycy wywołanej przez *Candida tropicalis*.

Następstwem choroby jest najczęściej silnie zaznaczony spadek, a czasami zupełny zanik mleczności, spowodowany niewątpliwie częściowym lub całkowitym zwłóknieniem gruczołu mlecznego. Bardzo istotnym momentem przy postępowaniu zapobiegawczym jest zwrócenie uwagi na długotrwałe siewstwo, które pomimo ustąpienia objawów klinicznych utrzymywać się może przez kilka tygodni, a nawet przez okres 3 do 4 miesięcy (1, 7, 10). W badaniach własnych notowano u 6 krów na 7 leczonych oraz u jednej doświadczalnej zanik siewstwa po 2 lub 3 tygodniach, natomiast u jednej leczonej i jednej doświadczalnej dopiero po upływie ok. 2 miesięcy. To długotrwałe utrzymywanie się drożdżaków w gruczole mlecznym jest niewątpliwie związane ze spadkiem odporności w związku ze wzmożoną przemianą materii dla pokrycia potrzeb produkcyjnych. W tej sytuacji siły obronne tego narządu nie są w stanie szybko zlikwidować zaistniałą infekcję. Poza tym słabe oddziaływanie antygenowe drożdżaków nie sprzyja szybkiemu powstawaniu odporności czynnej.

Wg danych piśmiennictwa (1, 4, 5, 10) i obserwacji własnych drożdżaki z gatunku *Candida* cechuje słaba inwazyjność, stąd zwykle zajęta jest tylko jedna ćwiartka i brak tendencji do samoistnego powstawania przerzutów na inne ćwiartki. Stwierdzone w jednym przypadku zajęcie dwóch ćwiartek przypisać należy przeniesieniu czynnika chorobotwórczego przez cielę przy ssaniu. Dużą natomiast zakaźność wykazuje *Cryptococcus neoformans* i niekiedy promieniowce powodując z reguły zmiany we wszystkich ćwiartkach, a czasami nawet wtórne przerzuty do narządów wewnętrznych (1, 6, 8).

Wspomniane grzyby jak to stwierdzili Galli (4) i Innes (16) prowadzą do powstawania silnych nacieków histiocytarnych i eozynofilnych oraz do zwyrodnienia i nekrozy tkanki gruczołowej. Keith i Loken (7) przy badaniu histopatologicznym tkanki gruczołu mlecznego krów zakażonych *C. tropicalis* stwierdzili brak lub bardzo słabe nacieki limfocytarne, obecność blastospor w świetle pęcherzyków i przewodach wyprowadzających. Badania własne wykazały, że podobne zmiany histopatologicz-



ne spotkać można przy drożdżycach wymienia wywołanych przez *C. albicans* i *C. pseudotropicalis*. Poza wymienionymi uprzednio zmianami stwierdzono obecność blastospor w komórkach pęcherzyków gruczołu mlecznego, które ulegają obrzękowi lub rozpadowi. Ponadto wykazano, że do badania histopatologicznego bardzo przydatne okazały się preparaty nie barwione przygotowane na mikrotomie zamrozeniowym. Jak podano we wstępie, obecny renesans chorób grzybiczych pozostaje w ścisłym związku z coraz powszechniejszym stosowaniem antybiotyków i to szczególnie tych o szerokim zakresie działania. W badaniach własnych na ogólną ilość 8 w 7 przypadkach drożdżyc gruczołu mlecznego wystąpiła u krów, które uprzednio chorowały na zapalenia bakteryjne i w związku z tym leczone były jednorazowo lub kilkakrotnie antybiotykami. Dość wymowny był również fakt pojawiania się zmian przede wszystkim w ćwiartkach uprzednio leczonych. W jednym tylko przypadku (nr 3) stwierdzono u pierworódki drożdżycę gruczołu mlecznego jako schorzenie pierwotne. Momentem usposabiającym w tym przypadku był niewątpliwie stan fizjologiczny gruczołu, a samo zakażenie mogło być spowodowane w czasie ssania przez cielę lub być wynikiem wnikięcia drożdżaka w okresie przedporodowym lub tuż po porodzie. Jako inne czynniki predysponujące do występowania grzybic wymieniane są niedobory witaminowe i chów oborowy szczególnie w okresie zimowym. Skąpa ilość przypadków własnych nie pozwala na wyciąganie w tym względzie jakichś wniosków, tym bardziej, że na 8 obserwowanych, 3 wystąpiły w okresie letnim, a jeden w okresie jesiennym.

Wydaje się, że w badaniach własnych zasadniczym momentem usposabiającym i wyzwalającym drożdżycę gruczołu mlecznego było podawanie antybiotyków, które eliminując prócz chorobotwórczej również normalną florę bakteryjną, stworzyły dogodne warunki do rozwoju i namnażania się, a tym samym chorobotwórczego działania drożdżaków. W warunkach fizjologicznych takim antagonistą dla *Candida* są niewątpliwie bakterie kwasu mlekowego (*Lactobacillus*) co wykazali *in vitro* Yong i Krasner (cyt. wg 9). Zresztą potwierdzeniem tego były własne spostrzeżenia nad drożdżycami gruczołu mlecznego wywołanymi przez sztuczne zakażenie. W grupie krów, którym uprzednio podano dowymieniowo antybiotyki, tak objawy miejscowe jak i ogólne były o wiele silniej wyrażone, niż u krów, które zakażono bezpośrednio.

Rozpoznanie drożdżycy wymienia na podstawie dodatniego wyniku posiewu musi być jednak bardzo ostrożne z uwagi na powszechne występowanie drożdżaków w przyrodzie i możliwość zanieczyszczenia próbek. Dlatego w badaniach własnych posiewy powtarzano

kilkakrotnie przy przestrzeganiu wszystkich zasad zalecanych przy pobieraniu próbek do badań bakteriologicznych. Jako typowe drożdżycę przyjęto tylko te, w których przynajmniej dwukrotnie otrzymano w posiewach czystą kulturę drożdżaków. W pozostałych trzech przypadkach, w których wyizolowano mieszaną florę, potraktowano drożdżaki jako florę towarzyszącą. Drożdżaki w tych przypadkach wyrastały w postaci pojedynczych kolonii, natomiast wzrost bakterii był obfity. Oczywiście nie wyklucza to, że w pewnych przypadkach drożdżaki czy inne grzyby towarzyszące infekcjom bakteryjnym mogą odziaływać chorobotwórczo atakując szczególnie tkanki czy narządy osłabione lub uszkodzone i pogłębiając zmiany chorobowe. Badanie fizykalne mleka nie przedstawia większych wartości rozpoznawczych. W ostrej fazie stwierdza się surowiczą wydzielinę z szarżółtawymi grudkami włókniaka, co spotykane jest również przy zapaleniach na tle bakteryjnym. W okresie przewlekłym mleko może być zmienione (gęste, o żółtawym odcieniu) lub nie wykazywać makroskopowo żadnych zmian. Dość charakterystyczny jest natomiast dla drożdżyc zasadowy odczyn mleka i to zarówno w okresie ostrym jak i przewlekłym. Zasadniczym momentem warunkującym rozpoznanie jest izolacja i oznaczenie szczepu. *Bluhm* (2) badając mleko od 50 klinicznie zdrowych krów znajdujących się w okresie laktacji nie stwierdzał nigdy obecności drożdżaków warunkowo chorobotwórczych z gatunku *Candida*. Podobne wyniki uzyskano przy orientacyjnych badaniach własnych. Natomiast w próbkach wydzielin z gruczołu mlecznego od krów zaszuszonych stwierdzono kilkakrotnie wzrost pojedynczych mieszanych kolonii gronkowców białych i drożdżaków. Drożdżaki te cechowały się brakiem zdolności fermentacyjnych oraz brakiem wytwarzania pseudomycelium, co wykluczyło ich przynależność do gatunku *Candida*. Oczywiście zagadnienie to dla wysnucia jakichś wiążących wniosków wymagałoby przebadania reprezentatywnych ilości zwierząt. Niemniej jednak biorąc pod uwagę badania *Van Udena* i *Do Carmo Sousa* (15), którzy stwierdzili warunkowo chorobotwórcze drożdżaki przede wszystkim w przewodzie pokarmowym bydła, a poza tym na skórze, można przyjąć, zgodnie z poglądem *Ainswortha* i *Austwicka* (1), że do wystąpienia drożdżycy gruczołu mlecznego dochodzi po wnikięciu pewnych drożdżaków drogą galaktogenną i zaistnieniu warunków sprzyjających ich namnażaniu się. *Redaelli* (10) podaje, że w warunkach doświadczalnych udało mu się wywołać zapalenia gruczołu mlecznego za pomocą *Cryptococcus neoformans*, *Candida tropicalis*, *C. pelliculosa*, *Saccharomyces fragilis* i te traktuje jako najbardziej chorobotwórcze. Własne badania doświadczalne wy-

kazały, że również przy użyciu *C. pseudotropicalis* jak i *C. albicans* wywołać można drożdżycę gruczołu mlecznego zwłaszcza po uprzednim wyjałowieniu wymienia antybiotykami o szerokim zakresie działania. W leczeniu drożdżycy gruczołu mlecznego najbardziej istotne jest zaniechanie podawania antybiotyków. Dalsze postępowanie lecznicze jest sprawą dyskusyjną i otwartą. W piśmiennictwie podkreślany jest fakt, że często objawy kliniczne ustępują samoistnie, ale pozostaje przecież długotrwałe nieraz nosicielstwo i siewstwo drożdżaków. Ainsworth i Austwick (1) podają, że dobre wyniki daje dowymienione podawanie zawiesiny jodu w oleju parafinowym lub cyclohexemidu. W badaniach własnych poza środkami ogólnie wzmacniającymi (witamina C, glukonian wapnia) stosowano z powodzeniem leczenie jodkiem potasu. Wyniki przedstawionych badań i obserwacji klinicznych nasuwają następujące wnioski:

1. Stwierdzono występowanie u krów drożdżycę gruczołu mlecznego wywołanych przez *Candida pseudotropicalis*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* oraz *Saccharomyces fragilis* (dojrzałe stadium *Candida pseudotropicalis*).

2. Drożdżycę gruczołu mlecznego występowały z reguły wtórnie u krów, które uprzednio leczone były jednorazowo lub kilkakrotnie antybiotykami o szerokim zakresie działania. W jednym przypadku u pierworódki stwierdzono drożdżycę pierwotną.

3. Do charakterystycznych objawów klinicznych zaliczyć można łagodny ale wybitnie przewlekły przebieg. W ostrej fazie choroby, poza niską gorączką, nie spostrzegano innych objawów ogólnych.

4. Rozpoznanie drożdżycy stawiano na podstawie kilkakrotnie powtarzanych dodatnich wyników posiewów mykologicznych. Ponadto potwierdzono je badaniami histopatologicznymi, w których wykazywano obecność blastospor w świetle przewodów oraz w pęcherzykach gruczołowych.

5. W warunkach doświadczalnych wywołać drożdżycę gruczołu mlecznego przez dowymienione wprowadzenie zawiesiny *Candida pseudotropicalis* i *C. albicans*. Szczególnie silnie wyrażone objawy zaobserwowano u krów doświadczalnych, którym przed zakażeniem podano dowymienicwo antybiotyki.

#### Piśmiennictwo

1. Ainsworth G. C., Austwick P. K. C.: Fungal Diseases of Animals, C.A.B., Weybridge (1955).
2. Blum P.: Zum Vorkommen von Hefen und Pilzen in Milch unter besonderer Berücksichtigung der Gewinnung von Reinkulturen mit Hilfe eines Mikromanipulators. Vet. Diss. Berlin (Humboldt — Universität), 1960.
3. Funke H.: Bovine Mastitis mit Hefepilzen im Euterssekret. Nord. Vet. Med., 12, 54, (1960).
4. Galli G.: Observation and research on bovine mycotic mastitis. Vet. Ital., 5, 587, (1954).
5. Hulse E. C.: An outbreak of mastitis in cattle caused by yeasts and the experimental reproduction of the condition. Vet. Record, 64, 210 (1952).

6. Innes J. M. R. i in.: The pathology of bovine mastitis caused by *Cryptococcus neoformans*. Amer. J. Vet. Res., 13, 469, (1952).
7. Keith I., Loken i in.: Infection of the bovine udder with *Candida tropicalis*. J.A.V.M.A., 134, 1, 401, (1959).
8. Pierr A., Mejia A. J., Willers E. H.: *Nocardia asteroides* of bovine mastitis. Amer. J. Vet. Res., 22, 502, (1959).
9. Polemann G., Wegmann T., Stammier A.: Klinik und Therapie der Pilzkrankheiten, G. Thieme Verlag, Stuttgart, (1961).
10. Redaelli G.: Ricerche sulle micotiche. Archiv. Vet. Ital., 8, 97, (1957).
11. Selle, Lauer: Sprosspilze als Krankheitserreger insbesondere im Eutergewebe bei Kühen. Mh. Thk., 7, 94, (1955).
12. Simon J., Hall P.: An outbreak of bovine mycotic mastitis associated with dry storage of teat cap inflammations. J. Milk. Technol., 18, 298, (1955).
13. Steele-Bodger A.: Bovine mastitis due to yeasts. Vet. Rec., 65, 304, (1953).
14. Stuart P.: An outbreak of bovine mastitis from which yeasts were isolated. Vet. Rec., 63, 314, (1951).
15. Van Uden N., De Carmo Sousa L.: Yeasts from the bovine caecum. J. Gen. Microbiol., 16, 285, (1957).

#### Волошин С., Кжижановски Я., Зёло Т. ИССЛЕДОВАНИЯ MASTITIS BLASTOMYCETICA КОРОВ.

Авторы исследовали и вели клинические наблюдения 8 коров зараженных в естественных условиях и 4 коров — экспериментально. Упомянутая болезнь выступала как правило вторично у коров, которым с лечебной целью вводили в вымя антибиотик, чаще всего хлоромидетин. В одном случае наблюдали примарное явление. Характеристическим клиническим признаком считается по авторам легкое но исключительно продолжительное течение болезни. В остром периоде обнаруживается только низкая температура животного. Диагностируется болезнь на основании нескольких повторяющихся положительных результатов микологических посевов. Сверх того велись гистопатологические исследования — присутствие blastospor в пузырьках и каналиках железы. В трех случаях обнаружили *Candida pseudotropicalis*, в двух — *C. albicans*, а в остальных — *C. tropicalis*, *C. krusei* и *Saccharomyces fragilis*. Экспериментально вызывали вводя в железу эмульсию *C. pseudotropicalis* и *C. albicans*. Особенно сильно выраженные признаки наблюдались у экспериментальных коров, которым перед заражением вводили в вымя антибиотика.

#### Wołoszyn S., Krzyżanowski J., Ziolo T. — Investigations of mastitis blastomycetica in cows.

The authors carried out examination and clinical observation of 3 cows infected in natural conditions and 4 cows infected artificially. The mastitis blastomycetica in cows in the country usually occurred for the second time or more often in cows which had previously been treated with injections of antibiotics, usually chloromycetin, into the udder. In one case, in a cow giving birth for the first time, primary mastitis blastomycetica was observed. Among the characteristic clinical symptoms was a mild but clearly chronic course of the disease. In the acute phase of the disease, apart from a low fever, no other general reactions were observed. The diagnosis of the disease was made on the basis of frequently-repeated positive results in disseminating mycological cultures. These findings were confirmed by histo-pathological tests, in which the presence of blastospores was observed in the lumen of blood-vessels and in the mammary vesicles. In two cases the cause was *Candida albicans*, in three *Candida pseudotropicalis*, and in the remaining cases *Candida tropicalis*, *Candida krusei* and *Saccharomyces fragilis* (the mature stage of *Candida pseudotropicalis*). In experimental conditions mastitis blastomycetica was caused by injecting a suspension of *Candida pseudotropicalis* and *Candida albicans* into the udder. Very severe symptoms were observed in the experimental cows to which, before infection, had been administered antibiotics into the udder.



Wołoszyn S., Krzyżanowski J., Ziolo T. — **Investigations, concernant „mastitis blastomycetica” chez les vaches.**

Les auteurs effectuèrent des investigations et des observations cliniques de 8 vaches infectées dans des conditions naturelles et de 4 vaches infectées expérimentalement. Mastitis blastomycetica apparait à l'ordinaire secondairement chez les vaches auxquelles on avait appliqué précédemment des antibiotiques — le plus souvent la chloromycétine dans le pis. Dans un cas on constata chez une primipare une mastite blastomycétique primaire. La marche bénigne mais chronique de cette maladie constitue un symptôme clinique caractéristique. Au cours de la phase aigue on observait seulement une fièvre peu élevée et point d'autres symptômes. La diagnose de la mastite s'appuyait sur des ensemencements mycologiques positifs répétés et était confirmée par des investigations histopathologiques, qui démontraient la présence de blastospores dans la lumière des canaux et dans les vésicules des glandes mammaires. Le facteur causant la maladie était dans 3 cas *Candida pseudotropicalis*, dans 2 cas *Candida albicans* et dans les autres *Candida tropicalis*, *Candida krusei* ainsi que *Saccharomyces fragilis* (phase mure de *Candida pseudotropicalis*). Dans les conditions expérimentales on provoquait les mastites de la glande laitière en introduisant dans le pis une suspension de *Candida pseudotropicalis* et *Candida albicans*. On observa des symptômes fortement accentués chez les vaches expérimentales auxquelles on avait appliqué des antibiotiques dans le pis avant l'infection.

Wołoszyn S., Krzyżanowski J., Ziolo T. — **Untersuchungen über Blastomykosen der Milchdrüse (mastitis blastomycetica).**

Untersuchungen und klinische Beobachtungen betreffen 8 natürlich erkrankte und 4 künstlich infizierte Kühe. Die Blastomykosen der Milchdrüse treten in der Praxis grundsätzlich als Nachkrankheit bei Kühen auf, bei denen therapeutisch intramammär Antibiotika, besonders Chloromycetin angewendet wurde. In einem Fall bei Erstgeburt ist eine ursprüngliche Blastomykose festgestellt worden. Als charakteristische klinische Symptome kann ein milder doch durchwegs chronischer Verlauf angerechnet werden. In der ersten Krankheitsphase ausser einem niedrigen Fieber wurden keine allgemeinen Symptome beobachtet. Die Diagnose der Blastomykose wurde auf mehrere Male wiederholte positive Ergebnisse der mykologischen Aussat gestützt. Ausserdem wurde die Diagnose durch histologische Untersuchungen bestätigt, bei welchen die Anwesenheit der Blastosporen im Lichte der Gänge und Drüsenbläschen wahrgenommen worden ist. In drei Fällen bildete den ätiologischen Faktor *Candida pseudotropicalis*, zweimal *C. albicans* und in restlichen Fällen *C. tropicalis*, *C. krusei* sowie *Saccharomyces fragilis* (reifes Stadium *C. pseudotropicalis*). Experimentell wurde mastitis blastomycetica durch intramammäre Einführung einer Suspension von *C. pseudotropicalis* und *C. albicans* hervorgerufen. Besonders starke Symptome traten bei experimentell infizierten Kühen auf, welchen man vor der Infektion intramammär Antibiotika verabreicht hat.

FELIKS ANCZYKOWSKI

## ○ przydatności rozpoznawczej aglutynacji próbki mleka z mlekiem (APM) badanym na brucelozę

Z Zakładu Chorób Bydła Instytutu Weterynarii w Puławach  
Kierownik: doc. dr FELIKS ANCZYKOWSKI

Serologiczne badanie mleka krów na brucelozę, praktycznie biorąc, nie odgrywa w naszym kraju żadnej roli. Próba pierścieniowa z mlekiem (Milk Ring Test — MRT), która w wielu zachodnich krajach miała i nadal ma jeszcze podstawowe znaczenie w walce z brucelozą, u nas nie przyjęła się z powodu nie ujednoczenia jej, a po wtóre z powodu większej niż gdzie indziej zawodności z mlekiem pochodzącym od pogłowia nader niewyrównanego pod względem wydajności mlecznej. Prowadzone są w zakładzie prace nad adaptacją tej próby do naszych warunków. Zresztą jest to próba jakościowa, orientacyjna.

Ilościowe ustalenie miana aglutynin w mleku za pomocą aglutynacji próbki mleka nigdzie dotąd nie zostało wykorzystane szerzej w praktyce, a w Polsce nie wyszło poza ramy laboratoryjnego eksperymentu. Złożyło się na to wiele powodów.

Przede wszystkim trzeba wymienić dość mierzalny sposób postępowania jak na metodę rutynową. Mleko powinno się najpierw odtłuścić, następnie potraktować je podpuszczką, a po tem dopiero nastawić odczyn z otrzymaną w ten sposób serwatka. Serwatka bywa nierzadko mętna i w tych przypadkach zaleca się jeszcze

mieszanie jej z czterochlorkiem węgla lub z chloroformem (6). Prócz tego serwatka może zawierać strąty. Toteż, jeśli nastawiło się aglutynację z zawiesiną nie zabarwioną, były trudności w ocenie wyników próby. Doświadczalnie wykazano (2), że w takich przypadkach popełnia się znaczne pomyłki w odczytach.

Dużą wadą aglutynacji próbki mleka był brak ujednoczonych kryteriów rozpoznawczych, a probowanych przez międzynarodowe organizacje.

Krytyczny stosunek do próby APM niewiele uległ zmianie po opublikowaniu wyników badań *Alivisatos* i *Edipides* (1), którzy zmodyfikowali odczyn MRT w badaniu mleka koziego. Nie wniosła też nader znamiennych ulepszeń szybka aglutynacja z mlekiem (Rapid Milk Agglutination Test — RMA) *Gregory'ego* (4); poza tym owa metoda odbiega w pewnej mierze od ujednoczonych warunków, z powodu wprowadzenia domieszki alunu amonowgliowego do zawiesiny oraz wskutek zmiany temperatury i czasu inkubowania próby. Niewątpliwym postępem jest natomiast zastosowanie do próby standaryzowanej zawiesiny barwionej przyzyciowo za pomocą TTC (1).

Powszechnie odczuwa się konieczność szerszego wykorzystywania mleka w serologicznych badaniach rozpoznawczych. Między innymi dawał temu wyraz Komitet Ekspertów FAO/WHO do Spraw Brucelozy (6, 7) na posiedzeniach odbytych w 1953 r. i w