

CZESŁAW KUREK, EDMUND SZWABE, WOJCIECH ROCZNIK

## Biologiczna metoda zwalczania gronkowcowych zakażeń gruczołów mlekowych krów w stadzie produkcyjnym w okresie zasuszania

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk 5

Z dotychczasowych badań własnych wynika, że możliwa jest eliminacja zakażeń gronkowcowych wymienia metodą biologiczną bez stosowania antybiotyków (4, 5, 6, 7, 8, 9). Stwierdzono, że wprowadzając w okolice węzłów chłonnych nadwymieniowych immunobiostymulator (IBS) w postaci zawiesiny niechorobotwórczych i zabitych ciepłem drobnoustrojów rodzaju *Corynebacterium*, eliminowane zostają zakażenia gronkowcowe o przebiegu podklinicznym (5, 6, 9). IBS stanowi zawiesinę drobnoustrojów rodzaju *Corynebacterium* gatunku taksonomicznie niezaszeregowanego, wyobiononego z wymienia, który opisano i nazwano nazewnictwem własnym jako *Corynebacterium uberis* 22 (C.u. 22) (2). Czasokres trwania nieswoistej oporności narządowej był zmienny i mógł wynosić w okresie laktacyjnym 6 miesięcy (3, 7). Wykazano również, że efektywność ImBS zależy od częstości występujących zakażeń gronkowcowych w gruczołach mlekowych krów w stadzie, a zachodzące współzależności mają uwarunkowania matematyczne (8, 9).

Celem pracy była próba immunobiostymulacji (ImBS) gruczołów mlekowych krów w okresie zasuszenia w stadzie produkcyjnym zakażonych gronkowcami o przebiegu podklinicznym.

### Materiał i metody

Zwierzęta. Zabiegowi ImBS poddano 95 krów rasy nob w PGR. Krowy były w różnym wieku o średniej wydajności mlecznej 3220 l w okresie laktacyjnym. Okres badawczy przypadł na porę jesienno-zimowo-wiosenną, w którym zwierzęta żywiono początkowo paszami roślinnymi *ad libitum*, później kiszonymi z dodatkiem 4–5 kg siana i 3–4 kg paszy treściwej. Krowy doświadczalne wyselekcjonowano spośród stada liczącego 360 sztuk bydła.

Badania mikrobiologiczne i definicja zakażenia. Do badań pobierano próbki wydzieliny z poszczególnych płatów gruczołowych. Ocenę mikrobiologiczną oraz definicję zakażenia przyjęto wg zasad już opisanych (6). Gronkowców wytwarzających koagulazę nie wyróżniano od gatunków naskórnych.

Zasada ImBS i test skuteczności. IBS w postaci zawiesiny drobnoustrojów C.u. 22 wprowadzano w okolice węzłów chłonnych nadwymieniowych wg zasad już opisanych (6, 7). Czasokres ImBS był zmienny i wahał się od 50 do 120 dni licząc od momentu podania IBS do dnia wycielenia. Badania kontrolne wydzieliny płatów wykonano w 10 czasokresach mieszczących się w przedziale od 48 do 139 dni. Dwukrotny wynik negatywny posiewów wydzieliny płatowej określano jako wyleczenie bakteriologiczne.

Grupa zwierząt kontrolnych. W 7 stadach o łącznej liczbie 712 krów określono częstość występujących zakażeń gronkowcowych gruczołów mlekowych przed zasuszeniem i po wycieleniu. Celem badań kontrolnych było określenie w jakim stopniu okres zasuszenia wpływa na swoistą eliminację zakażeń gronkowcowych, względnie ich wzrost liczebny.

Rachunek statystyczny. Obliczenia matematyczno-statystyczne uwzględniały: test t-Studenta, test chi-kwadrat, korelację liniową Pearsona, metodę najmniejszych kwadratów Gaussa (10, 13).

### Wyniki badań i omówienie

W tab. 1 podano wyniki ImBS krów i wpływ na liczebność zakażeń gronkowcowych gruczołów mlekowych i ich płatów przed zasuszeniem i po wycieleniu. Badania obejmują cztery grupy krów, dla których czasokresy ImBS wynosiły 50—76—78 i 120 dni. Badania kontrolne po wycieleniu wykonywano w 10 czasokresach mieszczących się w granicach od 48 do 139 dni.

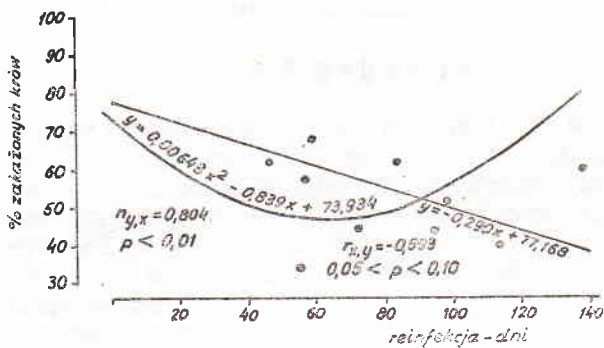
Występujące zależności zachodzące pomiędzy ImBS gruczołów mlekowych a czasokresem pojawiającej się reinfekcji po wycieleniu ilustruje ryc. 1. Analogiczne dane dla płatów gruczołowych przedstawia ryc. 2.

Z danych tab. 1 i ryc. 1 wynika, że najmniejsza częstość ponownych zakażeń gruczołów mlekowych wynosząca 33,3% wystąpiła po upływie 55 dni, największa natomiast — licząca 66,7% — po 60 dniach. W analogicznych czasokresach wystąpiła również minimalna częstość reinfekcji płatów wymieniowych wynosząca 18,5% oraz maksymalna — na poziomie 60,7%. Ponadto z rozrzutów indywidualnych częstości reinfekcji wynika, że w stosunku do 100% zakażeń przed ImBS, po wprowadzeniu IBS reinfekcje te są znacznie mniejsze i wykazują wyraźną tendencję spadku szczególnie w początkowych okresach badania. Występuje tu zatem zależność ujemna, co potwierdzają współczynniki korelacji liniowej Pearsona wynoszące dla gruczołów mlekowych  $r_{xy} = -0,593$ , a dla płatów  $r_{xy} = -0,559$ . Oba współczynniki podane weryfikacji statystycznej testem t-Studenta są znamienne przy  $0,05 < p < 0,10$ . Należy jednak zauważyć, że częstości reinfekcji w gruczołach mlekowych krów są wyższe po czasokresie wynoszącym 139 dni, aniżeli po upływie 96—98 i 113 dniach.

W odniesieniu do płatów gruczołowych analogiczne wartości odnoszą się do 96 i 113 dni.

Tab. 1. ImBS gruczołów mlekowych krów stada produkcyjnego i liczebność zakażeń gronkowcowych wymienia przed zasuszeniem i po wycieleniu

| Badanie    | Liczba badanych |        | Zakażenia |        |       |        | Czasokres trwania biostymulacji (dni) | Reinfekcja gruczołów wymieniowych gronkocami po wycieleniu (dni) |
|------------|-----------------|--------|-----------|--------|-------|--------|---------------------------------------|--|
|            | Krów            | płatów | Krów      | płatów | Krów  | płatów |                                       |  |
| Przed ImBS | 36              | 74     | 36        | 74     | 100,0 | 100,0  | 50                                    | 48   |
|            | 36              | 74     | 22        | 42     | 61,1  | 55,8   |                                       |  |
|            | 36              | 74     | 22        | 44     | 61,1  | 59,5   |                                       |  |
|            | 36              | 74     | 19        | 33     | 50,0  | 51,4   |                                       |  |
| Po ImBS    | 36              | 74     | 21        | 37     | 58,3  | 50,0   | 76                                    | 139  |
|            | 32              | 67     | 32        | 67     | 100,0 | 100,0  |                                       |  |
|            | 32              | 67     | 19        | 32     | 59,3  | 47,8   |                                       |  |
|            | 32              | 67     | 14        | 31     | 43,8  | 46,3   |                                       |  |
| Przed ImBS | 31              | 64     | 12        | 20     | 38,7  | 31,3   | 78                                    | 113  |
|            | 12              | 27     | 12        | 27     | 100,0 | 100,0  |                                       |  |
|            | 12              | 27     | 4         | 5      | 33,3  | 18,5   |                                       |  |
|            | 12              | 27     | 5         | 5      | 41,7  | 33,3   |                                       |  |
| Przed ImBS | 15              | 28     | 15        | 28     | 100,0 | 100,0  | 120                                   | 60   |
|            | 15              | 28     | 10        | 17     | 66,7  | 60,7   |                                       |  |
|            | 15              | 28     | 10        | 17     | 66,7  | 60,7   |                                       |  |
|            | 15              | 28     | 10        | 17     | 66,7  | 60,7   |                                       |  |



Ryc. 1. ImBS gruczołów mlekowych krów a czasokres ich reinfekcji po wycieleniu

Spostrzeżenie to sugeruje zastąpienie linii prostej krzywą, która lepiej odzwierciedla zależności zachodzące pomiędzy wtórnymi zakażeniami wywołanymi przez gronkowce po podaniu IBS.

Obliczone stosunki korelacyjne zachodzących zależności pomiędzy częstościami zakażeń wtórnych po ImBS wynoszą dla gruczołów mlekowych (krów):

$r_{yx} = 0,804$  ( $t_{0,01}$ ; 9 df = 3,250 < 4,056), a dla płatów

$r_{yx} = 0,749$  ( $t_{0,01}$ ; df = 3,250 < 3,391).

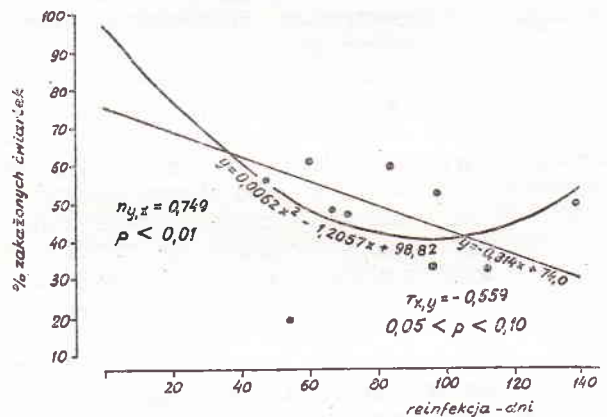
Ponieważ oba stosunki korelacyjne są znacznie wyższe niż odpowiadające im współczynniki korelacji, a ponadto są silnie znamienne przy  $p < 0,01$ , częstości empiryczne reinfekcji gruczołów mlekowych i ich płatów wyrównano za pomocą parabol metodą najmniejszych kwadratów Gaussa (10, 13).

Parabole dla gruczołów mlekowych i ich płatów ilustruje ryc. 3 wg następujących wzorów:

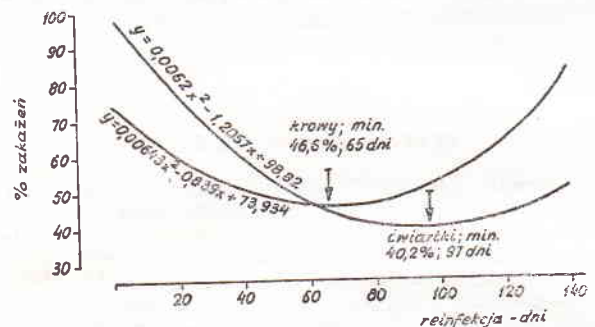
dla gruczołów mlekowych  $y = 0,00643x^2 - 0,839x + 73,934$  oraz

dla płatów gruczołowych  $y = 0,0062x^2 - 1,2057x + 98,82$

We wzorach tych  $y$  = odsetek zakażonych gruczołów mlekowych lub ich płatów, natomiast  $x$  = dni po biostymulacji w odniesieniu do reinfekcji gronkowcowej.



Ryc. 2. ImBS gruczołów mlekowych krów a czasokres reinfekcji ich płatów po wycieleniu



Ryc. 3. ImBS wymienia a parabole reinfekcji gronkowcowych gruczołów mlekowych krów i ich płatów po wycieleniu

Na podstawie powyższych wzorów obliczono pierwsze pochodne, z których wynika, że dla gruczołów mlekowych najmniejsza liczba zakażeń wtórnych przypada na 65 dzień po ImBS i wynosi 46,6%, natomiast dla płatów gruczołowych minimum to zachodzi w 97 dniu i wynosi 40,2%.

Wyniki badań bakteriologicznych wydzieliny gruczołów mlekowych krów kontrolnych przed i po wycieleniu nie poddanych ImBS, przedstawia tab. 2. Dla 7 grup krów wskaźnik za-



Tab. 2. Samoistna eliminacja względnie reinfekcja zakażeń gronkowcowych wymienia w okresie zasuszenia (grupy kontrolne)

| Stado | Liczba |        | Płaty wymieniowe zakażone gronkowcami |              |               |              | Różnice liczebne zakażonych płatów |      |          |                | Przedziały czasowe między badaniami dni |
|-------|--------|--------|---------------------------------------|--------------|---------------|--------------|------------------------------------|------|----------|----------------|---|
|       | krów   | płatów | przed zasuszeniem                     |              | po wycieleniu |              | %                                  |      | p        | x <sup>2</sup> |   |
|       |        |        | liczba płatów                         | % płatów     | liczba płatów | % płatów     | +                                  | -    |          |                |   |
| 1     | 132    | 529    | 36                                    | 6,82 ± 1,10  | 39            | 7,39 ± 1,19  |                                    | 0,57 | p > 0,05 | 0,120          | 146                                     |
| 2     | 114    | 456    | 36                                    | 7,89 ± 1,26  | 25            | 5,40 ± 1,06  | 2,41                               |      | p > 0,05 | 1,984          | 133                                     |
| 3     | 90     | 360    | 37                                    | 10,28 ± 1,60 | 30            | 6,33 ± 1,46  | 1,95                               |      | p > 0,05 | 0,731          | 178                                     |
| 4     | 129    | 516    | 104                                   | 20,16 ± 1,77 | 59            | 19,19 ± 1,73 | 0,97                               |      | p > 0,05 | 0,123          | 138                                     |
| 5     | 66     | 264    | 8                                     | 3,03 ± 1,05  | 6             | 3,03 ± 1,08  | -                                  |      | p > 0,05 | 0,0            | 149                                     |
| 6     | 74     | 296    | 22                                    | 7,43 ± 1,52  | 31            | 10,47 ± 1,78 |                                    | 3,04 | p > 0,05 | 1,528          | 101                                     |
| 7     | 107    | 428    | 14                                    | 3,27 ± 0,96  | 25            | 5,86 ± 1,13  |                                    | 2,57 | p > 0,05 | 3,103          | 184                                     |
| Razem | 712    | 2848   | 257                                   | 9,02 ± 0,54  | 257           | 9,02 ± 0,54  | -                                  | -    | p > 0,05 | 0,0            |   |

każeń gronkowcowych wynosił  $9,02 \pm 0,54\%$  i był statystycznie nieistotny ( $p > 0,05$ ). Podobne wyliczenia dla krów poszczególnych grup wykazały różnice na poziomie  $p > 0,05$ .

Uzyskane efekty w postaci eliminacji zakażeń gronkowcowych wymienia w okresie zasuszenia przy zastosowaniu metody biologicznej przewyższają analogiczne wskaźniki po zastosowaniu chemioterapeutyków. Stosując wysoce efektywne w swym działaniu antybiotyki uzyskuje się 53% wyleczeń (12), przy najwyższym wskaźniku nie przekraczającym 87% (cyt. 11). Po upływie 7 tygodni od wycielenia liczba wtórnych zakażeń gronkowcowych osiąga zwykle poziom wyjściowy (cyt. 11).

Jak wynika z badań własnych, najwyższy wskaźnik efektywności ImBS stwierdzono w 65 dniu laktacji. Wynosił on dla gruczołów mlekowych (krów) 53,4%, a dla płatów wymieniowych — 59,8% ale w 97 dniu.

Uzyskane wyniki potwierdzają dane z wcześniejszych badań własnych o możliwościach stosowania ImBS u krów w okresie zasuszenia (7). Okres ochronny po wycieleniu dla grupy 24 krów w stadzie o dobrej zdrowotności wymion wynosił  $153,7 \pm 75,5$  dni przy  $p < 0,05$  (7). Nieco gorsze wyniki uzyskane w niniejszych badaniach można odnieść do wysokiego początkowego stopnia zakażenia stada, które wynosiło 27%. Jak wykazano, zależność ta jest silnie znamienna, bowiem wzrost zakażeń gruczołów mlekowych w stadzie o 1% wpływa na wyższą reinfekcję po ImBS o 1,65%, a płatów wymieniowych o 3,12% (8, 9).

Zastosowana w pracy metoda ImBS gruczołów mlekowych ma charakter empiryczny. W rozumieniu aktualnie rozwijających się kierunków badań biomedycznych, uzyskane efekty zaliczyć można do immunoterapii czynnej. Jak wykazano bowiem uzyskano stosunkowo długie antygronkowcowe czasokresy ochronne, o bliżej nieznanym mechanizmach odpornościowych. O ile u zwierząt zjawiska te są mało poznane, to analogiczny dział w medycynie ludzkiej stanowi przedmiot intensywnych badań poznawczych. Odnosi się to szczególnie do im-

munostymulacji w terapii onkologicznej po zastosowaniu szczepionki BCG i *Propionibacterium parvum*. Jak wykazano, stymulują one układ śród błonkowo-epitelialny (RES) i odpowiedź komórkową, indukując głównie makrofagi (1) Stwierdzony we wcześniejszych badaniach własnych wzrost liczby makrofagów w wydzielinie gruczołów mlekowych po podaniu IBS oraz przejściowa wyższa liczba zakażeń gronkowcowych płatów wymieniowych, przemawiają za aktywacją wzmiankowanych komórek (4, 5). Brak informacji o analogicznych badaniach w dostępnym piśmiennictwie światowym stwarza dodatkowe trudności interpretacyjne.

## Wniosek

1. Zastosowanie immunoterapii czynnej w zwalczaniu gronkowcowych podklinicznych stanów zapalnych wymienia przy użyciu biostymulatora bakteryjnego jest efektywne nie tylko w okresie laktacyjnym, ale również w czasie zasuszania.

## Piśmiennictwo

1. Gieldanowski J.: Immunostymulacja farmakologiczna i jej znaczenie w badaniach podstawowych i lecznictwie. Immunoterapia, PAN, Zakład im. Ossolińskich, 1984.
2. Kurek C.: Pol. Arch. Wet. 18, 53, 1975.
3. Kurek C.: dane niepublikowane.
4. Kurek C.: Proc. conf. Resistance Factors and Genetic Aspects of Mastitis Control. Jabłonna, oct. 2 — 5, 1980, s. 286.
5. Kurek C.: Ibidem, oct. 2 — 5, 1980, s. 265.
6. Kurek C., Ławrynowicz Z., Kossakowski C.: Antybiotykoterapia a biostymulacja wymienia w zwalczaniu gronkowcowych stanów zapalnych gruczołów mlekowych krów. Medycyna Wet. (w druku).
7. Kurek C.: Attempt of biological activation of RES of cow udder and elimination of bacterial infections. III. Immunostimulatory effect of *Corynebacterium uberis* (C.u. 22) in the dry cows. V Inter. Symp. of Mastitis Control, Bydgoszcz, sept. 1985 (w druku).
8. Kurek C.: Subclinical staphylococcal mastitis of cows in commercial dairy herds during the lactation period. I. Infections of the udder and mammary gland quarters. V Inter. Symp. of Mastitis Control, sept. 1985 (w druku).
9. Kurek C.: Ibidem. II. Bacterial infections and the effectiveness of biostimulation in the biological method in mastitis control. V Inter. Symp. of Mastitis Control, Bydgoszcz, sept. 1985 (w druku).
10. Lange O.: Wstęp do ekonomii. PWN, Warszawa 1967.
11. Pankey J. W., Barker R. M., Tuomey A., Duirs G.: Dairy Re. Report, Hill. Farm Research Station, Homer, LA. 71040. 1963.
12. Philpot W. N.: J. Dairy Sci. 62, 168, 1979.
13. Puchalski T.: Statystyka. PWN, Warszawa 1969.

Adres autora: doc. dr hab. Czesław Kurek, ul. Batorego 37c/34, 80-251 Gdańsk 6

Курек Ч., Швабе Э., Рочняк В. — Биологический метод борьбы со стафилококковыми инфекциями молочных желез в производственном стаде в период запуска

Иммуностимуляции (ИмБС) вымени с применением суспензии микроорганизмов штамма *C. uberis* 22, убитого теплом, подвергли 95 коров в период запуска. У всех коров отметили стафилококковые субклинические воспалительные состояния вымени. Продолжительность действия ИмБС колебалась 50—120 дней, считая с момента ввода биостимулятора в области лимфатических узлов над выменем по день отела. На 65 день после отела показателем эффективности для молочных желез коров в виде бактериологического излечения составлял 53,4%, а

для железистых долей на 97 день — 59,8%. Результаты продискутировали.

Kurek C., Szwabe E., Rocznik W. — Biological method of control of staphylococcal infections of udders in a herd of cows in a dry period

Immunobio-stimulation (ImBS) using a heat inactivated suspension of *C. uberis* 22 was performed in 95 cows in a dry period. Subclinical staphylococcal infections of udders were diagnosed in all treated animals. ImBS was applied in the region of supramammary lymph nodes 50—120 days before calving. The index of effectiveness of ImBS for the udder in the form of bacteriological healing at 65th day after calving was 53.4% and for milk gland lobes at 97th day it reached 59.8%. The results are discussed.

MATEUSZ STÖBER

## Różnicowa symptomatologia niektórych chorób ośrodkowego układu nerwowego u bydła\*)

Klinika Chorób Bydła Instytutu Ryszarda Götze  
Wyższej Szkoły Weterynaryjnej w Hanowerze

### Wścieklizna

Wścieklizna bydła jest najczęściej związana z pokąsaniem tych zwierząt przez lisa chorego na wściekliznę. Choroba u bydła występuje przeważnie sporadycznie, epizootycznie występuje wścieklizna tylko po zakażeniu przez nietoperze (Ameryka Środkowa i Południowa), a jej okres wylęgania wynosi od 2 tygodni do 4 miesięcy. Ostra postać wścieklizny w ciągu kilku dni kończy się śmiercią zwierzęcia, przy czym duże przeżuwacze stanowią końcowe ogniska łańcucha epizootycznego. Trudno jest prawidłowo rozpoznać pierwsze objawy nasuwające podejrzenia choroby szczególnie w okresie predromalnym.

Przede wszystkim, u zwierząt chodzących luzem, zwraca uwagę wyraźnie zaznaczone ożywienie (podobne jak w okresie rui), znamionujące się żywymi, zezowatym spojrzeniem, stryżeniem uszami, obwąchiwaniem otoczenia, czasami występującym ślinotokiem oraz w pojedynczych przypadkach biegunką. Krowy opórcz osłupiałego wzroku i braku reakcji na przylegające do pyska żdźbła słomy, wywijają śluzawicę i wargę górną, co normalnie występuje u buhajów, gdy w ich pobliżu znajdują się krowy będące w okresie rui. Hałas, jak: zamykanie i otwieranie drzwi obory, przechodzenie ludzi i zwierząt powoduje podniecenie chorych zwierząt, a następnie ryczenie. Ryczenie nasila się i staje się coraz bardziej ochryple z powodu porażenia strun głosowych, bowiem przeżuwacze dotknięte wścieklizną tylko wyjątkowo

atakują inne zwierzęta. Dość charakterystyczna jest postawa zwierzęcia przy ryczeniu. Obserwuje się wysoko uniesioną głowę, odsadzoną podobnie jak przy rui nasadę ogona, a następnie porażenie zadu, zarysowujące się załamanie w stawach skokowych. Następnie chore zwierzę przestaje pić wodę, chociaż ją jeszcze rozpoznaje. Trudności przy picu wody wywołuje niepokój, wywijanie warg albo ryczenie. Wyjątkowo chore zwierzę ogryza otaczające je przedmioty: żłoby, słupy, wiadra do pojenia, częściej natomiast opiera głowę lub śluzawicę o koryto lub ścianę. W okresie podniecenia zwierzę rozgrzebuje ściółkę za pomocą rogów lub przednich kończyn. Także niespotykane normalnie zaplątywanie się w urządzenia służące do wiązania wskazuje, że chore zwierzę nie ma kontaktu z otaczającym go środowiskiem. Istotnym objawem, według naszych spostrzeżeń, jest występowanie w stadium podniecenia parcia do oddawania kału i moczu, które wydalane są w małych ilościach. Zamiast kału gromadzi się w zwiotczalej odbytnicy tylko zassane powietrze, które wypierane w zimnej oborze widoczne jest jako para. Przy tym rozeta odbytnicy zostaje mniej lub więcej wynicowana na zewnątrz, co jest szczególnie widoczne w czasie ryczenia. W przebiegu choroby trwającej 2—4 dni, charakterystyczny jest postępujący niedowład zadu, załamanie kończyn w stawie skokowym, częste pokładanie się oraz okresowe pozostawanie w pozycji siedzącego psa. W agonii, wskutek porażenia gardła i krtani, oddychanie jest utrudnione, zwierzę leży, charczy i stęka.

Diagnoza opiera się na badaniu laboratoryjnym i próbie biologicznej.

\*) Referat wygłoszony w dniu 19.VII.1984 r. podczas konferencji naukowej PTNW Oddział Gdańsk, zorganizowanej z inicjatywy Dyrekcji Instytutu Weterynarii Puławy.