

Grypa ptasia – nowe dane epidemiologiczne, możliwości leczenia (cz. II)

**Antoni J. Furowicz,
Danuta Czernomysy-Furowicz,
Magdalena Ferlas, Jacek Borkowski**

AR w Szczecinie

Motto: „Tak jak nie ma absolutnie bezpiecznego noża i niemyślnej ręki chirurga, tak nie ma absolutnie bezpiecznych leków; mogą być tylko bezpieczni lekarze” (Komel Gibiński, 1982)

Generalnie zapobieganie i leczenie grypy ptasiej nie odbiega od zabiegów realizowanych w profilaktyce i terapii grypy klasycznej. Jednak jej forma kliniczna ma u człowieka, jak do tej pory, głównie charakter odzwierzęcy. Tak więc, przede wszystkim należy doprowadzić do szybkiej diagnostyki zakażenia u ptaków (badania kliniczne, anatomopatologiczne, diagnostyka wirusologiczna realizowana na podstawie metod fenotypowych i genotypowych). W przypadku rozpoznania, należy szybko eliminować rezerwuar i źródła zakażenia. Konieczna jest ścisła współpraca lekarzy weterynarii oraz medycyny, klinicystów i epidemiologów, jak również hodowców drobiu i ornitologów. W Polsce instytucją zajmującą się epidemiologią grypy, w aspekcie stałego monitoringu szerzenia się zarazy, jest Krajowy Ośrodek ds. Grypy (związany z WHO), znajdujący się w Państwowym Zakładzie Higieny w Warszawie. Współpracuje on z organizacją European Scientific Working Group on Influenze (ESWI) oraz z centralą FAO mieszczącą się w Rzymie [1].

Immunoprofilaktyka powinna obejmować wakcyzację ludzi (a być może również w przyszłości zwierząt) adekwatną szczepionką (zawierającą antygeny: H5 i N1), podjednostkową lub inaktywowaną rozszczepioną. Trwają badania nad syntezą nowych typów szczepionek. Dotyczy to szczepionek przygotowywanych z hodowli komórkowych, szczepionek DNA („genowych”) oraz wektorowych, jak również wakcyn produkowanych z innych białek wirusowych aniżeli H5 i N1 [6]. Należy podkreślić, że szczepieniom winny być poddane w pierwszej kolejności osoby z grup największego ryzyka, a więc ludzie w podeszłym wieku, o niskim poziomie odporności oraz z chronicznymi chorobami dróg oddechowych, serca i nerek [1]. Ponadto, małe dzieci, u których przebieg grypy może być bardzo ostry i często śmiertelny [6], a następnie lekarze medycyny i weterynarii, epidemiolodzy, hodowcy drobiu, jak również ornitolodzy praktycy, mający bezpośredni kontakt z dzikim ptactwem.

W celu nieswoistej aktywacji układu odpornościowego korzystnym zabiegiem wydaje się immunomodulacja, realizowana poprzez podanie interferonów typu I (IFN α/β) lub II (IFN- γ). Preparaty te pobudzają m.in. cytotoksyczność komórek NK, jak również aktywują komórki linii monocytarno-makrofagowej

i cytotoksyczne limfocyty T. Wymienione komórki determinują odporność przeciwwirusową [2].

Za profilaktykę ogólną odpowiedzialna jest służba weterynaryjna, której rozporządzenia dotyczące zwalczania grypy odzwierzęcej winny być bezdyskusyjnie respektowane. Warto jednak zaznaczyć, że likwidacja chorych i podejrzanych o zakażenie ptaków powinna być realizowana w sposób humanitarny. Nie do przyjęcia są metody stosowane w krajach azjatyckich, ale również w europejskiej części Turcji i Rumunii, prezentowane przez środki masowego przekazu. Nie wolno niszczyć stad ptaków wędrownych, które często tylko teoretycznie mogą być nosicielami wirusa H5N1. W Polsce dotyczy to tzw. ostoi, czyli miejsc, w których wędrowne ptaki zatrzymują się na krótki odpoczynek w czasie swoich przelotów wiosennych lub jesiennych. Obserwacja ich zachowania na tych terenach w ramach tzw. rygorów weterynaryjnych jest konieczna, nie powinna jednak prowadzić do drastycznych działań typu „na wszelki wypadek”. Warto pamiętać, że przyczyną pojawienia się ptasiej grypy jest człowiek, który stworzył określone warunki chowu drobiu, które m.in. poprzez długotrwałą pasaż zarazka spowodowały pojawienie się zakażeń u ptactwa hodowlanego o charakterze epidemii [4, 6].

Terapia to podawanie głównie takich leków, jak: Symmetrel (amantadyna) lub bardziej znana w Polsce rybantadyna (pochodna metylowa pierwszego preparatu) oraz nowszych chemioterapeutyków – Tamiflu (oseltamivir) i Relenza (zanamivir). Zwrócono uwagę, że dwa pierwsze leki, podawane w pierwszych dniach choroby, nie prowadzą do jej eliminacji, ale skracają średni czas trwania gorączki i innych symptomów. Dwa pozostałe preparaty, hamując syntezę wirusowych glikoprotein, jaką jest neuraminidaza, zatrzymują procesy kolonizacji i inwazji wirusa; oddziałują terapeutycznie i profilaktycznie [1, 6]. Preparat Tamiflu jest pozyskiwany z ekstraktu nasion anyżu gwiazdkowego, rośliny uprawianej głównie w Chinach. Lek ten cechuje się niskim pH; jest podawany w postaci tabletek ludziom chorym na grypę lub podejrzanym o zakażenie. Ponad 90% zbiorów anyżu zużywa szwajcarska firma farmaceutyczna Roche. Jedno opakowanie Tamiflu (kuracja dla jednej osoby) kosztuje około 17,55 euro. Relenza (zanamivir), preparat o podobnym działaniu, przygotowany w formie do podawania inhalacyjnego, wytwarzany jest przez firmę Glaxo-Smith-Kline [6]. Odnotowano znaczną efektywność Tamiflu i Relenzy w terapii zakażeń wywołanych przez wirus H5N1, pod warunkiem wczesnego podania tych preparatów, najpóźniej w ciągu 48 godzin od stwierdzenia objawów choroby [1, 6]. Próbę skuteczności Tamiflu, chroniącą przed zakażeniem, przeprowadzono na myszach. Webster (cyt. wg [6]) ze szpitala dziecięcego (St. Jude Children's Research Hospital) odnotował, że „mysia równowartość” tego preparatu (dawka) dla ludzi odpowiada 2 tabletkom podawanym dziennie. Dawka ta skutecznie eliminowała infekcję pod warunkiem 7-8 dniowej kuracji. Uważa się jednak, że nawet przy zastosowaniu standardowych dawek Tamiflu, terapia 25% ludzkiej populacji w USA wymagałaby znacznie większych ilości tego preparatu, aniżeli 22 mln porcji, jakie amerykański Departament Zdrowia planował przygotować do września 2005 roku. Zasugerowano zgromadzenie co najmniej 400 mln porcji, co stanowi 40 mln pełnych kuracji. Specjalna Komisja Doradcza Departamentu zaznaczyła jednak, że 90 mln kuracji będzie mogło wystarczyć dla jednej trzeciej populacji, a dopiero 130 mln pozwoli także na zapobiegawcze podawanie Tamiflu lekarzom i innym pracownikom służby zdrowia, lekarzom wete-

Tabela 1

Leki przeciw grypie najnowszej generacji, aktualnie w badaniach klinicznych, wg Gibbsa i Soares [6], zmodyf.

Nazwa leku	Mechanizm działania	Zalety	Zakres badań
Peramivir (BioCryst Pharm.) CS-8958 (Biota-Sankyo)	Inhibicja neuraminidazy, glikoproteiny odpowiedzialnej za kolonizację i penetrację wirusa	Wolne nabieranie oporności wirusa na leki* CS-8958 to preparat o przedłużonym działaniu	Peramivir – określenie efektywności po badaniu dożylnym (2006 r.) CS-8958 – zakończenie w 2005 r. badań nad bezpieczeństwem preparatu
Fludase (Nex-Bio)	Blokowanie adhezji wirusa do komórki nabłonka	Lek blokuje receptor komórki nabłonkowej (kw. siałowy), hamując związaną z hemaglutyniną wirusową i tym samym penetrację zarazka	Rozpoczęcie badań klinicznych – początek 2006 r.
Neugene (AVI BioPharma)	DNA antysensowny, hamujący replikację genów wirusowych	Syntetyczna nić DNA preparatu wiąże RNA wirusa, zawierając informacje dla komórki dotyczące syntezy nowych cząsteczek wirusa	Badania przedkliniczne w roku 2006
Galanea-GOD101 (Alnylam Pharmaceuticals)	Stymulowanie interferencji RNA	Pobudzenie przez DNA mechanizmów obronnych zaatakowanej przez zarazki komórki; szybkie zniszczenie wirusa H5N1	Rozpoczęcie badań w przeciągu roku 2006

*z danych 2006 roku wynika, że pojawienie się szczepów H5N1 opornych na Tamiflu następuje szybciej niż zakładano; w przyszłości dotyczyć to może również Peramiviru

rynarii oraz innym pracownikom służb publicznych [6]. Trwają badania kliniczne innych preparatów. Największe nadzieje pokłada się w inhibitorach neuraminidazy, takich jak: peramivir (przeznaczony do podawania dożylnego) oraz zbliżony preparat CS-8958 (tab. 1).

Terapie najbliższej i dalszej przyszłości

Trwają intensywne badania nad możliwością wprowadzenia nowych leków przeciwgrypowych, które charakteryzowałyby się wysoką skutecznością (hamowanie kolonizacji i blokowanie cykli replikacyjnych wirusa na różnych etapach) oraz jednocześnie znikomą toksycznością. Chodzi tutaj o wykorzystanie związków pochodzenia naturalnego, uzyskiwanych w pierwszym rzędzie z roślin [11]. Preparaty takie są badane w kontekście zapobiegania i leczenia chorób wywołanych także przez inne wirusy, takie jak: wirus HIV, herpes wirusy (HSV-1 i -2, HHV-6 i -8), wirusy ospy wietrznej-półpaśca (VZV), retowirusy oraz wirusy pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej [3, 7, 8, 9, 12, 13, 18, 19]. Wiele z preparatów roślinnych wykazuje w tym kontekście znaczącą skuteczność i jest wprowadzanych do terapii [10, 17]. W opracowaniu naszym ograniczymy się jednak do omówienia leków, które mogą być przydatne w leczeniu grypy.

Aktywność przeciwwirusowa substancji roślinnych

Okazało się, że ekstrakty otrzymane z korzeni rośliny *Eleutherococcus senticosus* bardzo skutecznie hamowały replikację wirusów grypy A [7]. Serkedjewa i wsp. [14, 15, 16] wykazali podobne oddziaływanie wyciągów uzyskanych z *Geranium sanguineum* (bodziszek czerwony) w stosunku do wymienionych wirusów. Preparaty te i wiele innych substancji roślinnych jest stosowanych w medycynie ludowej przez mieszkańców basenu Morza Czarnego, między innymi w Bułgarii [15]. Namnażanie wirusów, zarówno grupy A jak i B, było natomiast hamowane po podaniu ekstraktu z kwiatów dziewanny wielokwiatowej (*Verbascum thapsiforme*) [20]. Wykazano, że znakomitym źródłem potencjalnych preparatów przeciwwirusowych jest roślinność morska, zwłaszcza wyciągi z krasnorostu rurecznicy, okrzemki oraz z różnych glonów [11]. Serkedjewa i wsp. [16] odnotowali, że ekstrakty otrzymane z różnych glonów, występujących na wybrzeżu Morza Czarnego, prezentowały silną aktywność w stosunku do wirusa grypy. Zbliżoną aktywność w stosunku do wirusów HIV i niektórych herpes wirusów wykazywały wyciągi z alg cyanobakterii (Schaeffer i Krylov, cyt. za [11]). Namnażanie wirusa parainfluenzy typu 3 (zbliżonego pod względem mor-

Analizowane rośliny	Rodzaj wirusa	Mechanizm oddziaływania	Autorzy
<i>Ipomopsis aggregata</i>	Wirus parainfluenzy typu 3	Hamowanie cyklu replikacyjnego wirusa*	El-Mekkawy i wsp., cyt za [11]
<i>Eleutherococcus senticosus</i> (żeń-szeń syberyjski**)	Wirus grypy A (różne typy H-N)	Hamowanie adhezji i replikacji	Hayashi i wsp. [8]
<i>Geranium sanguineum</i> (bodziszek czerwony)	Wirus grypy A	Hamowanie replikacji wirusów	Serkedjewa [14], Serkedjewa i wsp. [15, 16]
<i>Verbascum thapsiforme</i> (dziewanna wielokwiatowa)	Wirus grypy A i B	Hamowanie replikacji wirusów	Wleklik i wsp. [18]
<i>Malaleuca alternifolia</i>	Wirus grypy A	Hamowanie replikacji wirusów	Kędzia i wsp. [10]

*hamowanie cyklu replikacyjnego na różnych etapach = hamowanie rozmnażania wirusów

**bardziej znany jako eleuterokok kolczysty

Tabela 2
Aktywność przeciw wirusom grypy i parainfluenzy niektórych preparatów pochodzenia roślinnego

Tabela 3
Przeciwwirusowa aktywność niektórych związków chemicznych pochodzenia roślinnego, wg Krawczyk i Łuczaka [11], zmodyf.

Związki chemiczne: grupy	Analizowane substancje chemiczne	Źródło pochodzenia	Aktywność w stosunku do wirusów grypy i parainfluenzy	Mechanizm działania
Flawonoidy	Hesperetyna, kwercetyna	<i>Crateagus spp.</i> , owoce cytrusowe	Wirus parainfluenzy typu 3	Hamowanie cyklu replikacyjnego wirusa (rozmnażania)
	Amentoflawony, robustafławon	<i>Rhus succedanea</i> , <i>Garcinia multiflora</i>	Wirus grypy A i B	Hamowanie replikacji wirusów
Polisacharydy	Glikozydy	<i>Selaginella uncinata</i>	Wirus parainfluenzy typu 3	Hamowanie replikacji wirusów
Diterpeny	Pochodne furanoditerpenów	<i>Caesalpinia minax</i>	Wirus parainfluenzy typu 3	Hamowanie replikacji wirusów
Triterpeny	Kwas betuliny i jego pochodne	<i>Betula alba</i>	Wirus grypy A	Hamowanie replikacji wirusów
Seskwiterpeny	Triptofordin C-2 Hydrochinon seskwiterpenu	<i>Tripteridium wilfordii</i> <i>Strongylophora hartmani</i>	Wirus grypy A Wirus grypy A	Działanie wirusobójcze Hamowanie cyklu replikacyjnego

fologii, biologii i chorobotwórczości do wirusów grypy), hamował ekstrakt przygotowany z *Ipomopsis aggregata* [13]. Aktywność przeciwwirusową niektórych preparatów pochodzenia roślinnego przedstawiono w tabeli 2. Warto jednak podkreślić, że w wyciągach przygotowywanych z surowców roślinnych, poza substancjami terapeutycznie aktywnymi, mogą występować liczne elementy dodatkowe, powodujące negatywne efekty farmakodynamiczne oraz nieplanowane interakcje podawanych preparatów [11]. Stąd też szereg aktualnie realizowanych badań dotyczy poszukiwania aktywnych, ale bardzo czystych związków chemicznych pochodzenia naturalnego.

Aktywność przeciw wirusom grypy niektórych związków pochodzenia naturalnego

Najczęściej wymienia się preparaty z grupy flawonoidów, polisacharydów oraz terpenów (di-, tri- oraz seskwiterpenów). Odnotowano, że flawonoidy – kwercetyna i hesperetyna hamują cykl replikacyjny wirusów parainfluenzy typu 3 (Kaul i wsp. cyt. za [11]). Natomiast amentoflawon i robustafławon, biflawonoidy otrzymane z sumaka (*Rhus succedanea*) oraz z *Garcinia multiflora*, bardzo aktywnie blokowały namnażanie wirusów grypy A i B (Mitrokotsa i wsp. cyt. za [11]). Pewną aktywność w stosunku do wirusa parainfluenzy 3 wykazywały także glikozydy uzyskane z widliczki (*Selaginella uncinata*). Aktywność wirusobójczą w stosunku do wirusów grypy A wykazywał natomiast seskwiterpen triptofordin C-2, wyisobniony z pnącza *Tripterigium wilfordii*. Podobne działanie wykazywał hydrochinon seskwiterpenu, wyodrębniony z morskiej gąbki *Strongylophora hartmani* [19] oraz kwas betuliny (triterpen) i jego pochodne [3]. Aktywność przeciwwirusową niektórych związków chemicznych pochodzenia naturalnego przedstawiono w tabeli 3.

Badania aktywności przeciwwirusowej preparatów pochodzenia naturalnego

Metodyka tych badań jest bardzo skomplikowana [11]. Można tutaj wymienić kilka zasadniczych etapów: wyodrębnienie i dokładne określenie substancji czynnej (frakcjonowanie wyciągu roślinnego i oznaczenie aktywności biologicznej wszystkich frakcji); pozyskiwanie czystych substancji chemicznych; identyfikacja ich struktury i oddziaływania biologicznego. W celu wykrycia takich związków stosuje się wyjątkowo czułe i specyficzne metody chromatograficzne, takie jak: chromatografię cienkowarstwową, gazowo-cieczową oraz wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC). Określenie struk-

tury chemicznej aktywnych substancji osiąga się m.in. poprzez spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) oraz dzięki dwuwymiarowej spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (2D-NMR). Realizuje się także szereg metod sprzężonych, podnoszących czułość tych analiz. W końcu, aby porównać otrzymane wyniki dotyczące uzyskanej substancji z substancjami referencyjnymi, należy stworzyć internetową bazę danych [11]. Dopuszczenie leku do terapii wymaga jeszcze wielu badań przedklinicznych (na wrażliwych zwierzętach) i klinicznych na wybranych grupach ludzi.

Reasumując, wydaje się, że leki pochodzenia roślinnego, dzięki swojej aktywności przeciwwirusowej, znikomej toksyczności oraz wolno narastającej na nie oporności, mogą już wkrótce znaleźć zastosowanie w leczeniu zakażeń wirusem grypy. Dotyczy to także infekcji wywołanych przez wirus H5N1 oraz inne wirusy odzwierzęce. Zapotrzebowanie na takie preparaty jest ogromne, bowiem „konwencjonalna” grypa jest najczęściej występującą w Polsce zakaźną i zaraźliwą chorobą człowieka [21]. Symulacja przebiegu grypy ptasiej H5N1 wskazuje, że w zależności zarówno od postaci, jaką ten wirus uzyskał w wyniku kontaktu i wymiany materiału genetycznego z wirusem typowo ludzkim, jak i od miejsca oraz populacji, w której to ewentualnie nastąpi, przebieg zarazy będzie miał charakter mniejszej lub większej epidemii, czy nawet pandemii [6]. Optymistycznie zakłada się, że nigdy to nie nastąpi. Niemniej jednak, już w tej chwili sprawą zasadniczą jest przygotowanie możliwie największej ilości skutecznych leków. Warto pamiętać, że dotyczy to także naszego kraju.

Literatura: 1. Brydak L.B., 2000 – *Drugs* 60 (1), 35-53. 2. Figlerowicz M., Figlerowicz M., 2002 – *Biotechnologia (Wirusy)* 1 (56), 7-23. 3. Flekhter O.B., Boreko E.I., Nigmatullina L.R. et al., 2003 – *Bio-org. Khim.* (w jęz. rosyjskim), 29, 326-332. 4. Furowicz A.J., Ferlas M., 2005 – *Przegląd Hodowlany* 11, 1-4. 5. Gedara S.R., Abdel-Halim B., El-Sharkawy et al., 2003 – *Zentralblatt fur Naturforsch.* (C), 58, 23-32. 6. Gibbs W.W., Soares Ch., 2005 – *Świat Nauki* 11 (171), 25-33. 7. Glatthaar-Saalmuller B., Sacher F., Esperester A., 2001 – *Antiviral Res.* 50, 223-228. 8. Hayashi K., Hayashi T., Ujita K., Takaishi Y., 1996 – *Journal of Antimicrob. Chemotherapy* 37, 759-768. 9. Hirsch S., Rudi A., Kashman T., 1991 – *Journal of Natural Prod.* 54, 92-97. 10. Kędzia B., Alkiewicz J., Han S., 2000 – *Postępy Fitoterapii* 2, 36-40. 11. Krawczyk E., Łuczak M., 2005 – *Postępy Mikrobiologii* 44 (3), 239-252. 12. Lin Y.M., Flavin M.T., Schure R. et al., 1999 – *Planta Med.* 65, 120-125. 13. McCutcheon A.R., Roberts T.E., Gibbons E. et al., 1995 – *Journal of Ethnopharmacology* 49, 101-110. 14. Serkedjieva J., 1997 – *Pharmazie* 52, 799-802. 15. Serkedjieva J., Ivancheva S., 1999 – *Journal of Ethnopharmacology*

64, 59-68. 16. Serkedjieva J., Konaklieva M., Dimitrova-Konaklieva S. et al., 2000 – Zentralblatt fur Naturforsch. (C) 55, 87-93. 17. Strzelecka H., Kowalski J., 2000 – Encyklopedia Zielarstwa i Ziololectnictwa. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa. 18. Wleklík M., Łuczak M., Parnasiak W. et al., 1988 – Acta Virol 32, 522-525. 19. Wright A.E., Rueth S.A., Cross S.S., 1991 – Journal of Natural Prod. 54, 1108-1111.

20. Zgórníak-Nowosielska I., Grzybek J., Mandova N., Serkedjieva J., Zawilińska B., 1991 – Archives of Immunology and Therapy Exp. (Warszawa) 39, 103-108. 21. Zieliński A., Czarkowski M.P., 2005 – Przegląd Epidemiologiczny 59 (2), 191-200. 22. Zlydnikov D.M., Kubar O.I., Kovaleva T.P. et al., 1981 – Reviews of Infectious Diseases 3, 408-421.

Artykuł recenzowany

Diagnostyka oraz wrażliwość na antybiotyki drobnoustrojów wyizolowanych z klinicznych przypadków mastitis u bydła

Danuta Czernomysy-Furowicz,
Jolanta Karakulska, Magdalena Ferlas,
Jacek Borkowski, Paweł Nawrotek,
Antoni J. Furowicz

AR w Szczecinie

Bezpośrednią przyczyną powstawania zapalenia gruczołu mlekowego jest zakażenie specyficznymi drobnoustrojami chorobotwórczymi lub oportunistycznymi. Najczęściej są to bakterie: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Corynebacterium pyogenes* oraz drożdżaki z rodz. *Candida* [4, 12]. Zakażenie następuje przez kanał strzykowy (infekcja galaktogenna) i przez uszkodzoną skórę. Wszystkie drobnoustroje wywołujące zapalenie wymienia znajdują w gruczole mlekowym sprzyjające środowisko do wzrostu [16].

Do zakażenia gruczołu mlekowego paciorkowcami dochodzi przez kanał strzykowy. Najczęściej izolowany z przypadków mastitis paciorkowiec bezmleczności (*Streptococcus agalactiae*), ze względu na ograniczone możliwości przeżycia w środowisku zewnętrznym, rozprzestrzenia się w trakcie doju poprzez ręce dojarza, ściarki do czyszczenia wymion i kubki udojowe. Z kolei paciorkowce *Streptococcus uberis* i *Streptococcus dysgalactiae* występują w środowisku zewnętrznym [17].

Zakażenie wymienia gronkowcami następuje zarówno drogą galaktogenną, jak i poprzez skaleczenia skóry wymienia. Gronkowce posiadają zdolność wnikania do głębszych partii tkanki gruczolowej, gdzie tworzą zasklepione skupiska, dlatego też oddziaływanie antybiotyków, stosowanych w trakcie

leczenia mastitis, może być utrudnione [2]. Z kolei zapalenie wymienia na tle bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* może prowadzić do zaburzeń ogólnoustrojowych. Oprócz zakażenia drogą galaktogenną nie wyklucza się również zakażenia hematogenne tymi drobnoustrojami, które do krwioobiegu przedostają się z jelita. Jednym z przykładów takich infekcji jest kolimastitis [12].

Zapalenie wymienia wywoływane przez drożdże z rodzaju *Candida* występuje często w wyniku długotrwałej antybiotykoterapii. Powstająca wówczas nisza zasiedlana jest przez te drobnoustroje. Drożdże wykazujące naturalną oporność na antybiotyki przeciwbakteryjne mogą wykorzystywać je jako łatwo dostępne źródło azotu [6].

Stałe doskonalenie metod hodowlanych zwierząt gospodarskich powoduje pojawianie się nowych jednostek chorobowych, wśród których coraz większą rolę zaczynają odgrywać schorzenia polietiologiczne, wywoływane równocześnie przez kilka czynników zakaźnych (wirusy, bakterie, mykoplazmy) i niezakaźnych elementów środowiskowych [18]. Jednym z objawów mających wpływ na pojawianie się zakażeń polietiologicznych są u większości zwierząt niedobory odpornościowe. Do chorób takich należy między innymi mastitis u bydła.

Celem pracy było ustalenie odsetka krów z podklinicznymi i klinicznymi objawami mastitis na podstawie badania TOK, następnie izolacja drobnoustrojów wywołujących mastitis i ustalenie ich przynależności gatunkowej oraz określenie wrażliwości na antybiotyki wyosobnionych szczepów.

Materiał i metody

Doświadczenie zostało przeprowadzone na fermie bydła mlecznego. Badaniem TOK objęto 250 krów rasy holsztyńsko-fryzyskiej. Od krów, u których wynik badania TOK był pozytywny, pobierano próby mleka do badań mikrobiologicznych. Mleko w ilości 1 ml wysiewano na następujące podłoża diagnostyczne: Chapmana, Mc Conkey'a, Edwardsa, CIN, Saborarauda i agar wzbogacony z dodatkiem 5% krwi baraniej. Hodowle inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 godziny, w warunkach tlenowych. Mleko w ilości 1 ml wysiewano także na podłoże Wilson-Blaira, a hodowle inkubowano w temperaturze 37°C przez 2 doby w warunkach beztlenowych. Oceny morfologicznej komórek (z wyrosłych kolonii) dokonywano poprzez wykonanie preparatów mikroskopowych, które barwiono metodą Grama.

Cechy biochemiczne bakterii określano przy użyciu testów API firmy BioMerieux. Przynależność gatunkową bakterii wyselekcjonowanych oznaczano: na podłożu Chapmana – w teście API-Staph; na podłożach Mc Conkey i CIN – w teście API-20E; na podłożu Edwardsa – w teście API-20Strep; na podłożu Sabourauda – w teście API-20C. Chorobotwórczość gronkowców określano testem na obecność koagulazy (BioMerieux). Wrażliwość wyosobnionych szczepów na 16