

MIELĖS IR KITI MIKROORGANIZMAI SLAPTOJO KARVIŲ MASTITO ETIOLOGIJOJE

Jūratė Klimaitė¹, Algimantas Paškevičius², Eugenijus Anilius³

^{1,3} Lietuvos veterinarijos akademija, Akušerijos–ginekologijos katedra, Tilžės g. 18, LT – 3022 Kaunas; tel.: 8 37 36 34 02; el. paštas: akuserija@lva.lt

² Botanikos institutas, Žaliųjų ežerų g. 49, LT – 2021 Vilnius; tel.: 8 5 279 66 40; el. paštas: a.paskevicius@botanika.lt

Santrauka. Nustatyti karvių slaptojo mastito sukėlėjai. Ištirti 421 laktuojančios karvės 1684 tešmens ketvirčiai. Iš jų 1003 ketvirčiai teigiamai reagavo į CMT (California Mastitis Test - Kalifornijos mastitinis testas). Mikrobiologiškai ištirti 689 pieno mėginiai. Vieni mieliniai grybeliai, sukeltys slaptąjį mastitą, paprastai išskiriami retai. Mūsų tyrimų atveju - 2,61%. Mielės asociacijoje su kitomis bakterijomis išskirtos 123 (17,85%) pieno mėginiuose. Mielių su *Staphylococcus spp.* išskirta 2,90%, su *Enterobacter spp.* - 3,92%, su *Streptococcus spp.* - 0,29%, su *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* - 0,29%, su *Streptococcus spp.*, *Enterobacter spp.* - 1,31%, su *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* *Enterobacter spp.* - 1,16%, su *Staphylococcus spp.*, *Enterobacter spp.* - 7,98%. 471 (68,36%) pieno mėginyje išskirta *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterobacter spp.*

23 mielių kultūros identifikuotos iki rūšies. Dažniausiai buvo išskiriamos šios mielių rūšys: *Candida krusei* (Castellani) Berkhout - 9 atvejai (39,13%); *C. famata* (Harrison) S.A. Meyer et Yarrow - 3 (13,04%); *C. tropicalis* (Castellani) Berkhout - 2 (8,69%); *C. inconspicua* (Lodder et Kreger-van Rij) S.A.Meyer et Yarrow - 1 (4,35%); *C. parapsilosis* (Ashford) Langeron et Talice - 1 (4,35%); *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) C.E.Skinner - 1 (4,35%) ir *Rhodotorula rubra* (Demme) Lodder - 6 (26,09%).

Raktažodžiai: karvės, slaptasis mastitas, mielės, mikroorganizmai.

ETIOLOGY YEASTS AND OTHER MICROORGANISMS OF SUBCLINICAL MASTITIS IN COWS

Summary. The purpose of the study was to determinate etiological agents of subclinical mastitis in 1684 udder quarters of 421 milking cows. California Mastitis test showed positive reaction in 1003 udder quarters. Microbiologically 689 milk samples of cows quarter secretions were tested. Yeasts by them usually, caused mastitis, very rarely. In our case — 2.61%. In 123 samples (17.85%) of cases, mixed bacterial infection and yeasts were isolated: in 2.90% cases — by *Staphylococcus spp.* and yeasts; in 3.92% cases — by *Enterobacter spp.* and yeasts; in 0.29% cases — by *Streptococcus spp.* and yeasts; in 0.29% cases — by *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* and yeasts; in 1.31% cases — by *Streptococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, and yeasts; in 1.16% cases — by *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterobacter spp.* and yeasts; in 7.98% cases — by *Staphylococcus spp.*, *Enterobacter spp.* and yeasts.

The species 23 yeast cultures were identified: *Candida krusei* (Castellani) Berkhout 9 cases (39.13%); *C. famata* (Harrison) S.A. Meyer et Yarrow — 3 (13.04%); *C. tropicalis* (Castellani) Berkhout — 2 (8.69%); *C. inconspicua* (Lodder et Kreger-van Rij) S.A.Meyer et Yarrow — 1 (4.35%); *C. parapsilosis* (Ashford) Langeron et Talice — 1 (4.35%); *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) C.E.Skinner — 1 (4.35%); *Rhodotorula rubra* (Demme) Lodder — 6 (26.09%).

Keywords: cows, subclinical mastitis, yeasts, microorganisms.

Įvadas. Mielės aplinkoje labai paplitusios. Jas galima išskirti iš įvairių šaltinių: gyvulio odos, jo gulėjimo vietos, pašarų, vandens, tvarto oro, melžimo aparatų (Gonzalez, 1996). Mielės išskiriamos tiek iš sergančių, tiek iš sveikų karvių (Карташова и др., 1988). Dažniausiai jos esti sąlyginai patogeninės ir, tik sumažėjus gyvulio organizmo atsparumui ar netinkamai naudojant antibiotikus, įgyja patogeninių savybių (Van Cutsem, 1991). Be to, mielės gali būti ir įvairių žmogaus mikozinių susirgimų priežastis (Paškevičius, 2001).

Mieliniams grybeliams patekti į organizmą ir jame plisti neleidžia apsauginiai mechanizmai – sveika, nepažeista oda, ilgųjų grandinių nesočiosios riebiosios rūgštys, normalios bakterinės floros konkurencija, epitelio rezistentiškumas. Kraujo forminiai elementai (polimorfonukleariniai leukocitai, monocitai ir kt.) yra labai svarbus apsaugos barjeras nuo mielinų grybelių. Jie

gali suardyti grybelių pseudohifus, fagocituoti ir naikinti blastosporas. Svarbi apsauginė reikšmė tenka limfocitams, humoraliniams faktoriams, komplemento sistemai (Šapoka, 1998).

Vieni mieliniai grybeliai, sukeltys karvėms slaptuosius mastitus, paprastai pasireiškia retai, tačiau kartais gali sukelti ir epideminį pobūdį (Stanojevic et al., 2002). Mieliniai mastitai 30% atvejų pasireiškia pirmą kartą, o po gydymo antibiotikais kartojasi 70% atvejų. Pakitus organizmo apsauginiams mechanizmom, vartojant plataus veikimo spektro antibiotikus, mielės sparčiai dauginasi ir sukelia vietinius ar sisteminius diseminuotus pažeidimus (Jakobsen et al., 1996; Петрович, 1989). Mielinių mastitų atsiradimo priežastis gali būti prasta tešmens higiena, aseptinių sąlygų nepaisymas, vaistų švirkštimas į tešmenį ir pan. (Malinowski et al., 2001). Iš sergančių karvių pieno

dažniausiai išskiriami šie mieliniai grybeliai: *Candida albicans*, *C. famata*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* (*C. pseudotropicalis*), *C. tropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *Rh. minuta*, *Rh. glutinas*, *Trichosporon cutaneum*, *T.asahii*, *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* (Krukowski, 2001). Jie mastitą gali sukelti vieni arba kartu su patogeniniais mikroorganizmais - *S. aureus*, *S. agalactiae*, enterobakterijomis; su sąlyginai patogeniniais mikroorganizmais: koaguliazėi neigiamais stafilokokais (KNS) – *S. hyicus*, *S. albo*, *S. epidermidis* ir kt. (Moretti et al., 1998).

Mielinė infekcija, skirtingai nuo bakterinės, prasideda lėtai, be ryškesnių, mikozinėms ligoms būdingų klinikinių požymių. Todėl ją diagnozuoti vien iš klinikinių požymių beveik neįmanoma. Būtinai specifiniai laboratoriniai tyrimai, galutiniai patvirtinantys diagnozę (Šapoka, 1998; Van Cutsem et al., 1991).

Darbo tikslas – nustatyti karvių slaptojo mastito sukėlėjus. Išskirti ir identifikuoti mieles. Išaiškinti išskirtų mielių morfologinius, fiziologinius ir biocheminius savitumus.

Tyrimo metodika. Tyrimai atlikti 2001–2002 m. LVA, Akušerijos–ginekologijos katedroje, Gyvulių reprodukcijos laboratorijoje, Botanikos instituto Biodestruktorių tyrimo laboratorijoje. Mėginiai surinkti iš 10 skirtingų šalies regionų veislininkystės ūkių. Tyrimui atrinktos 3–6 metų laktuojančios karvės, kurių bendrame pieno kiekyje buvo 500 tūkst./ml ir daugiau somatinių ląstelių. Naudodami reagentą CMT (Kalifornijos mastitinis testas) nustatėme, kuriame tešmens ketvirtyje padaugėjo somatinių ląstelių. Tam tikslui į specialios plokštelės duobutes iš kiekvieno tešmens ketvirčio melžimo pabaigoje primelžiama po 2 ml pieno ir įpilama 2 ml testo tirpalo. Sukdami lėkštelę horizontalia plokštuma, po 10–15 sek. įvertinome reakciją (mišinio konsistenciją ir spalvos kitimus). Reakcija neigiama (-), jei mišinio konsistencija vienalytė, skysta, be matomų pakitimų; silpnai teigiama (+) – susidaro krešulėliai, mišinio klampumas padidėja (400-1500tūkst./ml); vidutiniškai teigiama (++) – mišinys klampus, sukan lėkštelę matomas krešulys, kuris lokalizuojasi vienoje vietoje (800–5000 tūkst./ml); stipriai teigiama (+++) – susidaro tąsus, klampus mišinys, ryškiai matomas trynio pavidalo krešulys (daugiau nei 5000 tūkst./ml). Iš viso ištirta 421 laktuojančios karvės 1684 tešmens ketvirčiai. 1003 ketvirčiai teigiamai reagavo į CMT. Pieno mėginiai buvo imami iš tų ketvirčių, kurių reakcija vidutiniškai ir stipriai teigiama (++ ir +++). Prisilaikant aseptinių reikalavimų, pamelžus į mėgintuvėlius paimti 689 pieno mėginiai.

Mastitinio pieno mėginiai buvo sėjami į *MacConkey* (*MacConkey* agar, „Oxoid“, Anglija), *Edwardso* (*Edwardso medium modified*, „Oxoid“, Anglija), avių kraujo (*Sheep blood agar base*, „Oxoid“, Anglija), *Saburo* (*Sabouraud dextrose agar*, „Oxoid“, Anglija), *Biggy* (*Biggy agar*, „Oxoid“, Anglija), *OGYE* (*O.G.Y.E. agar*, „Liofilchem“, Italija) terpes. Pasėliai 24–48 val. inkubuojami termostate 37° C temperatūroje, aerobinėmis

sąlygomis. Mikroskopu tiriami Gramo būdu dažyti tepinėliai iš išaugusių mikroorganizmų kultūrų. Atlikta CAMP testo reakcija.

Mielių kultūros aerobinėmis sąlygomis kultivuotos 5–7 paras 25–27° C temperatūroje. Išskirtos mielės identifikuotos remiantis morfologiniais, fiziologiniais ir biocheminiais savitumais taikant N.W.J.Kreger–van Rij identifikacijos sistemą (Kreger–van Rij, 1984). Taikyto „Fungichrom“ („International Microbio“, Prancūzija), ir „Integral system yeasts“ (Italija) mielių identifikavimo sistemos.

Sergančių karvių, kurioms išskyrėme mieles, pieno mėginių tyrimus atlikome tris kartus kas savaitę.

Tyrimo rezultatai. Nustatyta, kad, diagnostikos testu CMT ištirus 421 laktuojančios karvės 1684 tešmens ketvirčius, teigiamai reagavo 1003 ketvirčiai (59,56%).

Bakteriologiškai ištyrėme 689 pieno mėginius. Tyrimų rezultatai parodė, kad iš 471 (68,36%) buvo išskirta mišri mikroflora, kurią sudarė stafilokokai, streptokokai, enterobakterijos. 141 mėginyje (20,46%) išskirtos mielės, stafilokokai, streptokokai ir enterobakterijos. Vien tik mielės buvo išskirtos iš 18 mėginių (2,61%), o asociacijoje su mikroorganizmais – iš 123 (17,85%) mėginių: stafilokokai ir mieliniai grybai – 20 mėginių (2,90%); enterobakterijos ir mieliniai grybai – 27 mėginiuose (3,92%); streptokokai ir mieliniai grybai – dviejuose mėginiuose (0,29%); stafilokokai, streptokokai ir mieliniai grybai – dviejuose mėginiuose (0,29%); streptokokai, enterobakterijos ir mieliniai grybai – 9 mėginiuose (1,31%); stafilokokai, streptokokai, enterobakterijos ir mieliniai grybai – 8 (1,16%); stafilokokai, enterobakterijos ir mieliniai grybai – 55 mėginiuose (7,98%). Mikroorganizmų nepastebėta 77 mėginiuose (11,18%).

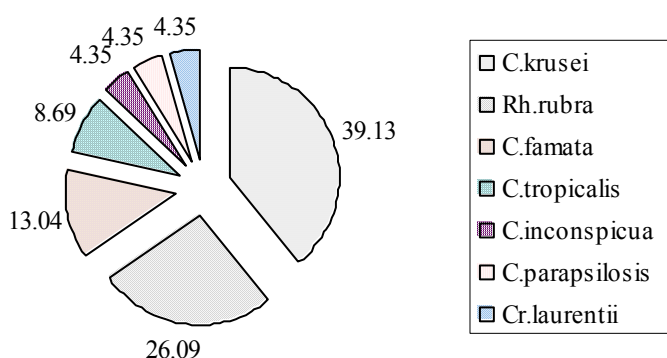
1 lentelė. Slaptojo karvių mastito sukėlėjai

Ištirtas karvių skaičius	421	
Ištirta ketvirčių	1684	
Teigiamai reagavo į CMT	1003	
Iš viso tirta mėginių (skaičius)	689	
Išskirta sukėlėjų	Mėginių skaičius	%
Gryni mieliniai grybeliai	18	2,61
<i>Staphylococcus spp.</i> ir mielės	20	2,90
<i>Enterococcus spp.</i> ir mielės	27	3,93
<i>Streptococcus spp.</i> ir mielės	2	0,29
<i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , ir mielės	2	0,29
<i>Streptococcus spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> ir mielės	9	1,16
<i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> ir mielės	8	1,16
<i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> ir mielės	55	7,98
<i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i>	471	68,36
Niekas neišaugo	77	11,18

Remdamiesi morfologiniais, fiziologiniais ir biocheminiais savitumais, iki rūšies identifikavome 23 mielių kultūras. Iš slaptuoju mastitu sergančių karvių pieno išskyrėme ir identifikavome tokias mielių rūšis: *Candida krusei* (Castellani) Berkhout, *C. famata* (Harrison) S.A. Meyer et Yarrow, *C. tropicalis* (Castellani) Berkhout, *C. inconspicua* (Lodder et Kreger-van Rij) S.A.Meyer et Yarrow, *C. parapsilosis* (Ashford) Langeron et Talice, *Rhodotorula rubra* (Demme) Lodder, *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) C.E.Skinner (Kreger-van Rij, 1984).

Dažniausiai buvo išskiriamos *Candida krusei* rūšies mielės, kurios sudarė 39,13% išskirtų šios genties rūšių. Remdamiesi morfologiniais stebėjimais nustatėme, kad gliukozės, skystoje mielių ekstrakto ir peptono terpėje kultivuotos tris paras 25° C temperatūroje, ląstelės esti kiaušinio formos, pailgos, kartais cilindriškos, 2,2 - 5,6 × 4,3–15,2 μm, išsidėsčiusios pavieniui, pumpurėtos arba

sudaro grandinėles, formuoja sausą, raukšlėtą šliaužiančią plėvelę. Auginama ant gliukozės, mielių ekstrakto ir agarizuotos peptono terpės 25° C temperatūroje kultūra esti balta, minkšta, lygi, su nelygiu pakraščiu, užsibaigiančiu pseudomiceliu. Ant kukurūzų agarų terpės matomas platus pseudomicelis, susidaręs iš pailgų ląstelių grandinėlių, dažnai išsišakojęs. Blastosporų kuokšteliai ir grandinėlės išsidėsto išilgai pseudohifų. Šios rūšies mielėms būdinga tik gliukozės fermentacija, glicerolio, DL- pieno ir gintaro rūgšties asimiliacija. Silpnai asimiliuoja L-sorbozę ir citrinos rūgštį. Neasimiliuoja galaktozės, sacharozės, maltozės, celobiozės, tregaliozės, laktozės, melibiozės, rafinozės, melecitozės, krakmolo, D-ksilozės, L- ir D- arabinozės, D- ribozės, L- ramnozės, eritritolio, ribitolio, D-manitolio, D-gliucitolio, salicino, inozitolio. Arbutino neskaido, nitratų neasimiliuoja. Auga terpėje be vitaminų 37° C temperatūroje.



Pav. Slaptuoju mastitu sergančių karvių pieno išskirtos mielių rūšys, %

Candida famata rūšies mielės sudarė 13,04% visų išskirtų šios genties sukėlėjų. Jų morfologinių ypatumų tyrimai parodė, kad gliukozės, skystoje mielių ekstrakto ir peptono terpėje kultivuojant tris paras 25° C temperatūroje ląstelės esti ovalios formos, nuo 2,5–4 × 3–5 μm iki 4–7 × 5–8,5 μm. Skystos terpės paviršiuje gali sudaryti ploną plėvelę. Kolonijos yra pilkšvos, balsvos, paviršius matinis, karpuotas arba raukšlėtas. Pseudomicelio neformuoja, tik kai kurios padermės sudaro trumpas šakotas ląstelių grandinėles. Šios rūšies padermėms būdinga silpna gliukozės, sacharozės, rafinozės, trehalozės fermentacija, o galaktozės, maltozės laktozės fermentacija nevyksta. Rūšiai įprasta galaktozės, sacharozės, maltozės, celobiozės, tregaliozės, rafinozės, melecitozės, D-ksilozės, L-arabinozės, glicerolio, ribitolio, D-manitolio, D-gliucitolio, salicino, DL-pieno ir gintaro rūgšties asimiliacija. Silpnai asimiliuoja L-sorbozę ir citrinos rūgštį, melebiozę, krakmolą, D-arabinozę, D-ribozę, L-ramnozę, eritritolį, galaktikolį. Visai neasimiliuoja inozito, nitratų. Arbutino neskaido. Silpnai auga terpėje be vitaminų 37° C temperatūroje.

Candida tropicalis rūšies sukėlėjai buvo išskiriami rečiau nei *C. krusei* ar *C. famata* ir sudarė 8,69% visų šios rūšies mielių. Remiantis morfologiniais stebėjimais nustatyta, kad gliukozės, skystoje mielių ekstrakto ir peptono terpėje kultivuojant tris paras 25° C

temperatūroje, ląstelės būna nuo ovalių iki ištišusių, 4,3 – 7,2 × 5,8 – 10,8 μm. Auginama ant gliukozės, mielių ekstrakto ir agarizuotos peptono terpės 25° C temperatūroje. Kultūra esti pilka, blanki, minkšta, lygi, kartais susiraukšlėjusi ir kieta. Formuoja pseudomicelį iš ilgų, šakotų pseudohifų su blastosporomis. Jos gali būti pavienės, išsidėsčiusios trumpomis grandinėlėmis arba šakelių pavidalo. Būdinga gliukozės, galaktozės, maltozės, sacharozės, tregaliozės fermentacija. Gali asimiliuoti galaktozę, maltozę, tregaliozę, laktozę, krakmolą, D-ksilozę, D-manitolį, D-gliucitolį ir gintaro rūgštį. Nitratų neasimiliuoja. Terpėje be vitaminų neauga, tačiau toleruoja 37° C temperatūrą.

Nors ir negausiai, tačiau išskirtos ir *Candida inconspicua* rūšies mielės. Jos sudarė 4,35% visų šios genties sukėlėjų. Šios mielių rūšies morfologinių požymių tyrimai parodė, kad gliukozės, skystoje mielių ekstrakto ir peptono terpėje kultivuojant tris paras 25° C temperatūroje, ląstelės yra ovalios 3 – 5,5 × 5,5 – 7,5 μm, kartais dar mažesnės – 1,5 – 3,5 × 3 – 6,5 μm. Auginama ant gliukozės, mielių ekstrakto ir agarizuotos peptono terpės 25° temperatūroje. Kultūra pilkšvai balta, lygi, minkšta. Sudaro siaurą pseudomicelį. Šios rūšies padermėms fermentacija nebūdinga. Asimiliuoja tik glicerolį, DL- pieno ir gintaro rūgštis. Nitratų neasimiliuoja. Terpėje be vitaminų neauga, tačiau tinka 37° C temperatūrai.

Candida parapsilosis rūšies mielės sudarė tik 4,35% visų išskirtų šios genties sukėlėjų. Morfologinių požymių tyrimai parodė, kad gliukozės, skystoje mielių ekstrakto ir peptono terpėje kultivuojant tris paras 25° C temperatūroje, šios mielių rūšies ląstelės yra ovalios, elipsinės ir pailgos, 2,9 – 4,3 × 3,6 – 7,2 μm, išsidėsčiusios pavieniui, poromis, trumpomis grandinėmis arba kekėmis. Formuoja pseudomicelį. Auginama ant gliukozės, mielių ekstrakto ir agarizuotos peptono terpės 25° C temperatūroje. Kultūra kreminės spalvos su geltonu atspalviu, blizganti, minkšta. Kolonijos paviršius lygus, o kai kurių raukšlėtas. Formuoja pseudomicelį. Šios rūšies padermėms būdinga gliukozės fermentacija. Galaktozę, sacharozę, maltozę fermentuoja silpnai, o laktozės fermentacija nevyksta. *C.parapsilosis* asimiliuoja galaktozę, sacharozę, maltozę, trehalozę, D-ksilozę, L- arabinozę, glicerolį, ribitolį, D- manitolį, D - gliucitolį. Silpnai asimiliuoja D- ribozę, L- sorbozę, DL- pieno, gintaro ir citrinos rūgštis. Arbutino neskaido, nitratų neasimiliuoja, terpėje be vitaminų neauga. Auga terpėje, kai temperatūra 37° C.

Iš slaptuoju mastitu sergančių karvių pieno buvo išskirtos ir identifiikuotos *Rhodotorula rubra* rūšies mielės (26,09%). Jų morfologinių požymių tyrimai parodė, kad, salyklinio ekstrakto terpėje kultivuojant 3–5 paras 25° C temperatūroje, ląstelių forma įvairuoja nuo ovalių iki pailgų, 2-5,5 μm. Kolonijos yra pilkšvos, balsvos, karpuotos arba raukšlėtos. Skystos terpės paviršiuje sudaro ploną plėvelę. Pseudomicelio neformuoja, tik kai

kurios padermės sudaro trumpas, šakotas ląstelių grandinės. Fermentacija nevyksta. Šios rūšies padermėms būdinga sacharozės, trehalozės, rafinozės, D-ksilozės, ribitolio, gintaro rūgšties asimiliacija. Galaktozės, maltozės, celobiozės, L- arabinozės, D-ribozės, L- ramnozės, D- manitolio, citrinos rūgšties asimiliacija vyksta silpnai. Laktozės, krakmolo, eritrolio, inozito, nitratų asimiliacija nevyksta. Terpėje be vitaminų neauga, tačiau tinka 37° C temperatūra.

Cryptococcus laurentii rūšies mielės buvo išskiriamos pavieniais atvejais ir sudarė 4,35% visų tiriamuoju laikotarpiu išskirtų mielių. Morfologinių požymių tyrimai parodė, kad, salyklinio ekstrakto terpėje kultivuojant tris paras 25° C temperatūroje, ląstelių forma įvairuoja nuo rutulio iki kiaušinio formos, išsidėsčiusios po vieną, o kartais grupelėmis po tris ar keturias. Ląstelių dydis įvairus - 2,0–5,5 × 3,0–7,0 μm, o kai kurių plotis gali siekti 8,5 μm, ilgis 13 μm. Kolonijos kreminės, gelsvos, šviesiai rožinės, oranžinės, gelsvai rudos spalvos. Jų paviršius lygus, blizgantis, kraštai skiautėti. Pseudomicelio neformuoja. Fermentacija nevyksta. Šios rūšies padermėms būdinga sacharozės, galaktozės, maltozės, celobiozės, trehalozės, laktozės, rafinozės, krakmolo, D- ksilozės, L- arabinozės, D- ribozės, L-ramnozės, eritrolio, ribitolio, D- manitolio asimiliacija. Gintaro ir citrinų rūgšties, inozito asimilacija silpna. Nitratų neasimiliuoja. Silpnai auga terpėje be vitaminų 37° C temperatūroje.

2 lentelė. Iš sergančių karvių pieno išskirtų mielinių grybelių biologinės savybės

Savybės	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida famata</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida inconspicua</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>	<i>Cryptococcus laurentii</i>
Pseudohifai	+ ¹	- ²	+	+	+	-	-
Fermentacija:							
Gliukozė	+	S ³	+	-	+	-	-
Sacharozė	-	S	+	-	S	-	-
Maltozė	-	-	+	-	S	-	-
Galaktozė	-	-	+	-	S	-	-
Rafinozė	-	S	-	-	-	-	-
Laktozė	-	-	-	-	-	-	-
Trehaliozė	-	S	+	-	-	-	-
Asimiliacija:							
Sacharozė	-	+	-	-	+	+	+
Maltozė	-	+	+	-	+	S	+
Rafinozė	-	+	-	-	-	+	+
Galaktozė	-	+	+	-	+	S	+
Laktozė	-	S	+	-	-	-	+
Trehaliozė	-	+	+	-	+	+	+

¹ – rezultatas teigiamas; ² – rezultatas neigiamas; ³ – rezultatas vidutinis

Rezultatų aptarimas. Tyrimų rezultatai parodė, kad iš 421 laktuojančios karvės 1003 pažeistų tešmens ketvirčių, 689 patikrintų pieno mėginių mišri mikroflora - stafilokokai, streptokokai, enterobakterijos – išskirta iš 471 mėginio. Nustatyta, kad iš 141 mėginio išskirtos mielės, stafilokokai, streptokokai ir enterobakterijos. Vien tik mielės išskirtos iš 18 mėginių. Italų mokslininkai ištyrė 794 pieno mėginius nustatė, kad 29,7% buvo

užkrėsti patogeniniais mikroorganizmais: 4,9% sudarė išskirtos bakterijos ir mielės, 4,4% – mielės ir 20,4% – bakterijos (Moretti et al., 1998).

Lenkų mokslininkai ištyrė, kad per pastaruosius keletą metų jų šalyje labai padaugėjo grybelių sukeltų mastitų. 1996 m. mieliniai grybai (daugiausia *Candida* genties) sudarė tik 0,2% visų išskirtų sukėlėjų, o 2000 m. – 14,4% (Malinowski et al., 2001).

Mūsų tyrimų rezultatai parodė, kad iš slaptuoju mastitu sergančių karvių pieno išskirtos ir identifikuotos tokios mielių rūšys: *Candida krusei* (39,13%), *C. famata* (13,04%), *C. tropicalis* (8,69%), *C. inconspicua* (4,35%), *C. parapsilosis* (4,35%), *Cryptococcus laurentii* (4,35%) ir *Rhodotorula rubra* (26,09%).

Italų mokslininkas A. Moretti (Moretti et al., 1998) nurodo, kad jiems pavyko išskirti *Trichosporon capitatum* (31,2%), *T. beigelii* (18,72%), *Candida albicans* (12,48%), *C. guilliermondii* (12,48%) ir *C. tropicalis* (12,48%) mielių rūšis. H. Krukowski ir kitų mokslininkų (Krukowski et al., 2001) duomenimis, Lenkijoje labiausiai paplitusios *Candida*, *Rhodotorula* ir *Trichosporon* genties mielės.

Lietuvoje anksčiau atlikti pieno mėginių bakteriologiniai tyrimai parodė, kad iš slaptuoju mastitu sergančių karvių pieno išskirtos *Candida* genties mielės sudarė 11,45%. Identifikavus jas iki rūšies, nustatytos *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. krusei*, ir *C. pseudotropicalis* (Zelba, 1984).

Pastebėta, kad, norint išskirti mieles ir jas identifikuoti iki rūšies, būtina turėti gryną kultūrą, nes kartu su šios genties mielių sukėlėjais gali išaugti atspari antibiotikams bakterinė mikroflora (Paškevičius, 2001).

Neįmanoma nustatyti mielių paplitimo iš vieno pieno mėginio. Jis gali užsiteršti nuo spenio galiuko, spenio kanalėlio, tešmens odos, melžiklių gumų ar tvarto oro. Rezultatams patvirtinti diagnozuojamą mikotinį mastitą, sukėlėjai iš tos pačios karvės pieno mėginių turi būti išskirti keletą kartų.

Išvados.

1. Nustatyta, kad karvių slaptuoju mastito atvejais grynų mielinų grybelių buvo išskirta 2,61%.

2. Mieliniai grybeliai dažniausiai (20,46%) esti asociacijose su stafilokokais, streptokokais ir enterobakterijomis.

3. Nustatyta, kad sergančių slaptuoju mastitu karvių pieno mėginiuose aptinkamos šios mielių rūšys: *Candida krusei*, *C. famata*, *C. tropicalis*, *C. inconspicua*, *C. parapsilosis*, *Cryptococcus laurentii*, *Rhodotorula rubra*.

4. Iš visų išskirtų ir identifikuotų mielių dažniausiai buvo aptinkamos *Candida krusei* rūšies mielės (39,13%).

Literatūra

1. Gonzalez R. N. Prototheca, Yeast and Bacillus a cause of mastitis. 35 th Annual Meeting of National Mastitis Council, Madison, WI, New York, 1996. P. 3 - 82.

2. Jakobsen M., Narvkus J. Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. International dairy journal, 1996 Vol.6. P. 755 - 768.

3. Kreger-van Rij N. J. W. Classification of yeasts. A Taxonomic study. Amsterdam, 1984. P. 1082.

4. Krukowski H. Zapalenia wymienia na tle grzybiczym u krów. Medycyna Wet, 2001. 57 Vol.1. P. 18 - 20.

5. Krukowski H., Tietze M., Majewski T., Rozanski P. Survey of yeast mastitis in dairy herds of small - type farms in Lublin region, Poland. Mycopathologia, 2001. 150 Vol.1. P. 5 - 7.

6. Malinowski E., Klossowska A., Lassa H. Variability among etiological agents of clinical mastitis in cows. Polish Journal of Veterinary Sciences, 2001. Vol. 4. N. 2. P. 41 - 44.

7. Malinowski E., Klossowska A., Lassa H., Kuzma K. Enzymatic activity of yeast species isolated from bovine mastitis. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 2001. Vol.45. P. 289 - 295.

8. Moretti A., Pasquali P., Mencaroni G., Boncio L., Piergili Fioretti D. Relationship between cell counts in bovine milk and the presence of mastitis pathogens (yeasts and bacteria). Veterinarmed, Italy, 1998. 45. Vol. 3. P. 129 - 32.

9. Paškevičius A. *Candida* genties mielių paplitimas tarp sergančiųjų grybinėmis odos ligomis. Laboratorinė medicina, 2001. N.2 (10). P. 23 - 27.

10. Stanojevic S., Krnjajic D. Yeast mastitis in cows. Internet journal of Food Safety, 2002. Vol.1. P. 8 - 10.

11. Šapoka V. Grybelinė infekcija vidaus ligų profilaktikoje. Vilnius, 1998. P.2 - 40.

12. Van Cutsem J., Rochette F. Mycoses in domestic animals. Janssen research foundation. Belgium, 1991. P.55 - 57.

13. Карташова В. М., Ивашура А. И. Маститы коров. Москва, 1988. С. 3 - 250.

14. Петрович С.В. Микозы животных. Москва, 1989. С. 174.

15. Зелба Э. Роль грибов рода *Candida* в этиологии мастита коров и разработка мер профилактики. Автореферат. Москва, 1984. С. 23.

2003 04 30