

STREPTOCOCCUS AGALACTIAE REIKŠMĖ KARVIŲ MASTITŲ ETIOLOGIJOJE IR JAUTRUMAS ANTIMIKROBINĖMS MEDŽIAGOMS

Irena Klimienė¹, Modestas Ružauskas¹, Vytautas Špakauskas^{1,3}, Česlova Butrimaitė-Ambrozevičienė^{2,3}, Violeta Mockeliūnienė⁴, Raimundas Mockeliūnas³, Marius Virgailis¹, Rita Šiugždinienė¹

¹LVA Veterinarijos institutas, Instituto g. 2, LT-56115, Kaišiadorys, tel. 8 346 60 687, fax. 8 346 60 697; el. paštas: klimienei@yahoo.com

²Nacionalinis maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo institutas, J. Kairiūkščio g. 10, LT-08409 Vilnius; el. paštas: cambrozeviciene@nvl.lt

³Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-47181, Kaunas

⁴KMU Psichofiziologijos ir reabilitacijos institutas, Vydūno al. 4, LT-00135, Palanga

Santrauka. 1998–2007 metais bakteriologiškai tirta 58 908 mastitu sergančios karvės. Atliktų tyrimų kiekis turėjo įtakos išaiškinant sukėlėją. Nustatyta, kad 18,04 proc. visų sirgusių karvių mastitą sukėlė *S. agalactiae* rūšies bakterijos. Slaptasis mastitas, kurio etiologinis faktorius – *S. agalactiae*, sudarė 94,3 proc. visų šio sukėlėjo sukeltų mastito atvejų, o kliniškinis mastitas – 5,7 proc. Nustatyta, jog mastitu daugiausia (84 proc.) serga jaunu ir vidutinio amžiaus (2–7 m.) karvių. Mažiau bandinių ($p < 0,05$) tirta vyresnių nei 8 metų amžiaus karvių, t. y. – 16,0 proc. tirtų bakteriologinių bandinių. Duomenų analizė parodė, kad *S. agalactiae* tampa problema pieno kokybei gegužės–liepos ir spalio–lapkričio mėnesiais. Tyrimu nustatyta sumažėjęs *S. agalactiae* bakterijų jautrumas kai kurioms antimikrobinėms medžiagoms, ypač tetraciklinams ir aminoglikozidų grupės antibiotikams. Taip pat nustatyta, kad nėra aiškių šios rūšies bakterijų jautrumo atskiroms antimikrobinėms medžiagoms dėsningumo skirtingais tyrimų periodais. Todėl kiekvienu atveju svarbu ne tik išskirti mastito sukėlėją, bet ir konkrečios padermės jautrumą antibiotikams.

Raktažodžiai: karvių mastitas, *S. agalactiae*, SLS, jautrumas antimikrobinėms medžiagoms.

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF STREPTOCOCCUS AGALACTIAE ISOLATED FROM DAIRY COWS IN LITHUANIA

Irena Klimienė¹, Modestas Ružauskas¹, Vytautas Špakauskas^{1,3}, Česlova Butrimaitė-Ambrozevičienė^{2,3}, Violeta Mockeliūnienė⁴, Raimundas Mockeliūnas³, Marius Virgailis¹, Rita Šiugždinienė¹

¹Veterinary Institute of Lithuanian Veterinary Academy, Instituto Str. 2, LT-56115, Kaišiadorys, Lithuania; phone 8 346 60 687; e-mail klimienei@yahoo.com

²National Food and Veterinary Risk Assessment Institute, J. Kairiūkščio Str. 10, LT-08409, Vilnius, Lithuania; e-mail: cambrozeviciene@nvl.lt

³Lithuanians Veterinary Academy, Tilžės Str. 18, LT-47181, Kaunas, Lithuania

⁴Institute of Psychophysiology & Rehabilitation c/o Kaunas University of Medicine, 4 Vydūno Str., Palanga 5720, Lithuania

Summary. The aim of performed study was to determine antimicrobial susceptibility and clinical significance of *Streptococcus agalactiae* isolated from dairy cows in Lithuania. In 1998-2007 from 58,909 cows microbial strains belonging to streptococci, enterococci and staphylococci isolated from sub-clinical and clinical cases of bovine mastitis were analysed for their susceptibility to several antimicrobial agents. The susceptibility patterns were studied by agar disk diffusion methods (ADDM). In our study 18.0% cases of mastitis (94.3 % of sub-clinical and 5.7 % of clinical cases) were caused by *S. agalactiae*. Comparing different age groups of cows revealed that the highest number of cows (84%) susceptible to *S. agalactiae* infection were young and middle-aged (2-7 years). Analysis of data showed, that *S. agalactiae* infection cases significantly increased during May – July and October – November. *S. agalactiae* had resistance patterns to different antimicrobials, however the highest percent of resistance was demonstrated to tetracyclines and aminoglycosides. There was no clear regularity on *S. agalactiae* susceptibility to different classes of antibiotics. It is important to test every strain according to susceptibility as variation to all classes of antibiotics is common.

Key words: cow mastitis, *S. agalactiae*, SCC, antimicrobials susceptibility.

Ivadas. Išvystytos pieninės gyvulininkystės šalyse karvių mastitas išplitęs tarp 30,0–40,0 proc. melžiamų karvių. Ligą gali sukelti dirginimas, traumos, bet pagrindinė priežastis yra bakterijos, kurių priskaičiuojama daugiau nei 135 rūšys (Malinowski et al., 2006; Tenhagen et al., 2006). Tyrėjų duomenimis, bandose, kur piene nustatomas didelis somatinis ląstelių skaičius (SLS), 79 proc. atvejų mastitą sukelia *Staphylococcus* ir *Streptococcus*

genčių bakterijos (Keefe, 1997; Wilson, 2004). Apie *Streptococcus agalactiae* išplitimą bandose pateikiami skirtingi duomenys. B. A. Tenhagen ir grupės bendradarbių tyrimais (2006), šis sukėlėjas nustatomas 29 proc. tirtų mėginių; pasak G. Köster (2004) ir J. D. Ferguson su grupe tyrėjų (2006) – 2,3–9,3 proc. A. Jemeljanovs (2000) nurodo, kad mastitą *S. agalactiae* gali sukelti 9,0–49 proc. visų atvejų *S. agalactiae* į spenio kanalą patenka nuo

melžėjų rankų, melžimo aparatų cilindrų, kraiko, taip pat hematogeniniu keliu. Kai mastitą sukelia *S. agalactiae*, somatinių ląstelių skaičius piene vidutiniškai siekia 857 tūkst. ml. Šis skaičius infekuotų bandų piene gali svyruoti nuo 366 000 iki 2 239 000 ml. Jeigu mastitą sukelia gramneigiamos bakterijos kartu su *S. agalactiae* ir *Arcanobacterium pyogenes*, tai somatinių ląstelių skaičius yra didesnis nei 10 milijonų ml (Djabri et al., 2002; Bansal et al., 2005; Malinowski et al., 2006). Sergančių karvių produkcija pradeda mažėti dieną prieš pasireiškiant klinikiniams požymiams, o produktyvumas per laktaciją sumažėja 1,31 kg pieno per dieną. Vykstant uždegiminių procesų, tešmenyje intensyviai vystosi intersticinis jungiamasis audinys, tešmuo sukietėja. Ligai užsitęsęs, ketvirtis atrofuojasi. Persirgusios karvės lieka streptokokų nešiotojomis (Ferguson et al., 2006).

Mastitu sergančios karvės gydomos antimikrobiniais preparatais, švirkščiamais į tešmenį arba į raumenis. Kai mastitą sukelia streptokokai, gydymui dažniausiai naudojami siauro veikimo spektro antibiotikai – natūralūs ir pusiau sintetiniai penicilinai, eritromicinas, linkomicinas. Be jų, ypač esant mišriai infekcijai, taikomi ir plataus veikimo spektro antibiotikai – tetraciklinai, gentamicinas, ampicilinas ar cefalosporinai (Deluyker et al., 2005).

Dažnai sergančioms mastitu karvėms gydyti skiriama ne vienas, o iš karto keli, kompleksiška veikiantys antibiotikai. Kombinuotas gydymas taikomas norint sustiprinti antimikrobinį poveikį, stabdyti atsparių mikroorganizmų plitimą, taip pat sumažinti toksiško antibiotiko dozę. Intensyviai ir ekstensyviai naudojant keletą skirtingų klasių antimikrobinų medžiagų, joms vystosi mikroorganizmų atsparumas. M. Roesch su grupe mokslininkų (2006), atlikę antimikrobinio atsparumo tyrimus, konstatavo, kad tiek pramoninėse, tiek tradicinėse melžiamų karvių fermose (pastarosiose ribojamas antibiotikų naudojimas) mastito sukėlėjų atsparumas antibiotikams buvo panašus.

A. Pitkälä su kitais tyrėjais (2004) nurodo, kad Suomijoje per 1995–2001 metus mastitų paplitimo stebėjimo laikotarpi streptokokai išliko jautrūs laktaminiais antibiotikams.

Regioniniai patogeninių bakterijų jautrumo skirtumai egzistuoja visose pienininkystę plėtojančiose šalyse. Tai priklauso nuo įvairių veiksnių – šalies ekonomikos, geografinės padėties, įstatyminės bazės (Baywater et al., 2004; Tenhagen et al., 2006).

Lietuvoje bakterijų atsparumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimai atliekami seniai, tačiau nėra gerai žinoma mikroorganizmų atsparumo šalyje situacija, ir kiek ji yra probleminė. Iki šiol bakterijų atsparumo duomenys nebuvo sisteminami, tyrimai atliekami daugiausia atskirose įstaigų mikrobiologijos laboratorijose, o rezultatai pateikiami tiesiogiai suinteresuotam ūkiui ar veterinarijos gydytojui. Išsamesni moksliniai tyrimai pradėti neseniai, o publikacijų duomenys dar nėra pakankamai išsamūs (Ružauskas et al., 2006).

Darbo tikslas – nustatyti *S. agalactiae* paplitimą karvių mastito etiologijoje ir atlikti šių bakterijų jautrumo antimikrobinėms medžiagoms analizę.

Tyrimų metodai ir sąlygos. Karvių mastito, sukeltos *S. agalactiae*, epidemiologinė situacija tirta analizuojant

Nacionalinio maisto ir veterinarijos rizikos vertinimo instituto (NMVRVI) ir Valstybinės įmonės „Pieno tyrimai“ duomenis. Sergančių mastitu karvių pienas laboratoriniams tyrimams rinktas 1998–2007 metais visų šalies rajonų skirtingo dydžio karvių bandose įvairiu metų laiku. Įvertinus tešmens būklę kliniškai ir atlikus greituosius somatinių ląstelių skaičiaus nustatymo testus (California Mastitis Test, JAV; Mastestas, Lietuva), atrinkti reprezentatyvūs bandiniai, kurie aseptiškai paimti į sterilius maišelius ir ištirti NMVRVI laboratorijoje klasikiniiais bakteriologiniais metodais.

Pieno somatinių ląstelių skaičiaus nustatymas. SLS kaitos piene atskirais metais analizė atlikta iš VĮ „Pieno tyrimai“ kontroliuojamų karvių imties. Pieno bandinių tyrimai atlikti fluorooptoelektroniniu metodu, naudojantis instrumentu „SomaScope“ (Delta Instruments, JAV). Bandinių kokybės nustatymo metodų tikslumas užtikrintas vadovaujantis žalio ir termiškai apdoroto pieno analizės metodų taikymo techniniu reglamentu, atitinkančiu Europos Tarybos sprendimą 91/180/EEB.

Mastitų sukėlėjų identifikavimas. Mastito sukėlėjai identifikuoti standartizuotais metodais, pateiktais vadove „Laboratory and field handbook on bovine mastitis“, o reikalui esant, atlikus papildomus testus atskiroms bakterijų rūšims identifikuoti. Pieno bandiniai tirti naudojant komercinę terpę „Aesculine Blood Agar“ (Oxoid, Anglija), papildytą 5 proc. avino krauju. Terpės lėkštelėse inokuluotos 10 µl pieno bandiniais ir 24–48 val. inkubuotos 36,0±1,0°C temperatūroje aerobinėmis sąlygomis.

Jautrumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimas. Bakterijų jautrumas antimikrobinėms medžiagoms tirtas Kirby-Bauer metodu pagal CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute, JAV) rekomendacijas (NCCLS, 2002). Tyrimui naudota vienos serijos kieta terpė „Mueller Hinton Agar II“ (Oxoid, Anglija). Tirta bakterijų suspensijos optiniu matuokliu „Liap 2“ (Latvija). Naudoti kompanijos „Oxoid“ šių koncentracijų antibiotikų diskai – tetraciklino (30 µg), gentamicino, (10 µg), neomicino, (10 µg), norfloksacino (10 µg), cefalotino (30 µg), cefaleksino (30 µg), linkomicino (15 µg), eritromicino (15 µg) bei komercinių pavadinimų diskai, pagaminti pagal atskirų kompleksinių vaistų pavadinimus – „Tetra-Delta“ (novobiocino, neomicino, penicilino ir streptomicino kombinacija) ir „Linco-Spectin“ (linkomicino ir spektinomicino kombinacija). Pagal diskų gamintojo lenteles atskirai vertinta kiekviena antimikrobinė medžiaga. Vertinimas atliktas pagal kliniškai ribines atsparumo reikšmes.

Statistinė duomenų analizė. Statistinė analizė atlikta kompiuterine programa „Epi Info“ (versija 6.04). Nustatyta aritmetinė reikšmė (X), standartinė paklaida (SD), įvairavimo koeficientai (Cv) bei mažiausios ir didžiausios reikšmės. Patikimumas tarp grupių (p) vertintas pagal Stjudento daugybinio palyginimo metodą. Rezultatas laikytas patikimu, jei reikšmė p buvo mažesnė už 0,05.

Tyrimų rezultatai. Tyrimų duomenimis, SLS kontroliuojamų karvių piene svyravo nuo 464,1±145,7 tūkst./ml iki 617±53,87 tūkst./ml, o patikimas statistinis kasmėtis didėjimas (p<0,05) užfiksuotas nuo 2000 m. (1 lentelė). Kontroliuojamų karvių bandose SLS piene rodikliai turi aiškia, su nedideliais svyravimais, didėjimo tendenciją.

Tai ypač pastebima per paskutiniuosius trejus metus, kai tiriamų mastitu sergančių karvių skaičius nuosekliai mažėja, o SLS ima didėti (2007 m. – 581,6±35,1 tūkst./ml). 2005 m. nustatytas didžiausias SLS per visą tiriamąjį lai-

kotarpį – 617,0±53,8 tūkst./ml. Tuomet taip pat ištirta santykinai daugiausia mastitu sergančių karvių po fiksuoto tyrimų sumažėjimo 2000 m.

1 lentelė. 1998–2007 m. SLS kontroliuojamų karvių piene kaitos ir karvių mastito bakteriologinio tyrimo dinamika

Analizuojami rodikliai	Tyrimo metai									
	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
SLS kontroliuojamų karvių piene, tūkst./ml	475,0±97,0	464,1±145,7	484,5±38,2*	614,5±52,4*	527,3±57,5*	590,0±37,9*	514,5±49,*9	617,0±53,87*	506,2±50,23*	581,6±35,1*
Sergančių karvių kiekis, kurių pienas tirtas bakteriologiškai	10215	13369	4271*	4035*	3675*	4685*	4875*	5658*	4237*	3888*
Laikomų karvių skaičius, tūkst. vnt	582,8	537,7	494,3	438,4*	441,8*	443,3*	448,1*	433,9*	416,5*	399,0*
Bakteriologiškai ištirtų karvių santykis nuo visų laikomų, proc.	1,7	2,5	0,9	0,9	0,8	1,0	1,1	1,3	1,0	0,9

*- ($p < 0,05$) statistiškai patikimi

Kiekvienais analizuojamais metais bakteriologiškai išaiškinta nuo 4035 iki 13 369 mastito sukėlėjais infekuotų ir sergančių karvių (1 lentelė). Per analizuojamą laikotarpį bakteriologiškai tirtos 58 908 mastitu sirgusios karvės. Kaip matyti iš 1 lentelės, bakteriologiniai tyrimai atlikti tik nedaugeliui karvių (0,8–2,5 proc.). Ženkliai daugiau mastitu sergančių karvių ištirta 1998–1999 metais. Tuo

metu nustatyta daugiausia *S. agalactiae* sukkelto mastito ir subklinikinio mastito atvejų (1, 2 lentelės). Viso tyrimo metu atliktų tyrimų kiekis turėjo įtaką sukėlėjo išaiškinimui. Tyrimų apimtys statistiškai patikimai kiekybiškai ir santykinai sumažėjo nuo 2000 m. Mažiausiai santykinai ir kiekybiškai bakteriologinių tyrimų atlikta ir *S. agalactiae* infekuotame piene identifikuota 2002 m.

2 lentelė. Karvių mastito sukėlėjo *S. agalactiae* tyrimo duomenys

Analizuojami rodikliai	Tyrimo metai									
	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Identifikuotų mastito sukėlėjų kiekis	2872	5569	1721	1803	1828	2116	1989	2518	2291	2191
Mastitu, sukkelto <i>S. agalactiae</i> , sirgusių karvių skaičius	432	938	326	427	331	462	345	325	417	390
Visų sukėlėjų proc. (17,6)	15,0	16,8	18,9	23,6	18,1	21,8	17,3	12,9	18,2	17,8
Iš jų subklinikinio mastito, sukkelto <i>S. agalactiae</i>	406	871	302	406	321	428	324	308	396	375
Proc. subklinikinių mastitų nuo mastitų kiekio, sukkelto <i>S. agalactiae</i> (94,1 proc.)	93,9	92,8	92,6	95,1	96,9	92,6	93,9	94,7	94,9	96,1

Analizuodami duomenis nustatėme SLS ir bakteriologiškai tirtų karvių koreliacinę priklausomybę, kur $r = -0,5541$; taip pat koreliacinę priklausomybę tarp SLS ir identifikuotų sukėlėjų – $r = -0,4469$ bei SLS ir *S. agalactiae* – $r = -0,3872$. Analizės duomenimis, laikomų karvių mažėja, ir mastito bakteriologinio tyrimo apimtys mažėja, tačiau augantis SLS rodo gana kritišką karvių tešmens sveikatingumo būklę. Neigiama atvirkštinė menkai išreikšta koreliacija, t. y. ryšio nebuvimas tarp SLS ir tirtų karvių skaičiaus bei identifikuotų sukėlėjų kiekio, rodo

planingų karvių sveikatinimo priemonių nebuvimą.

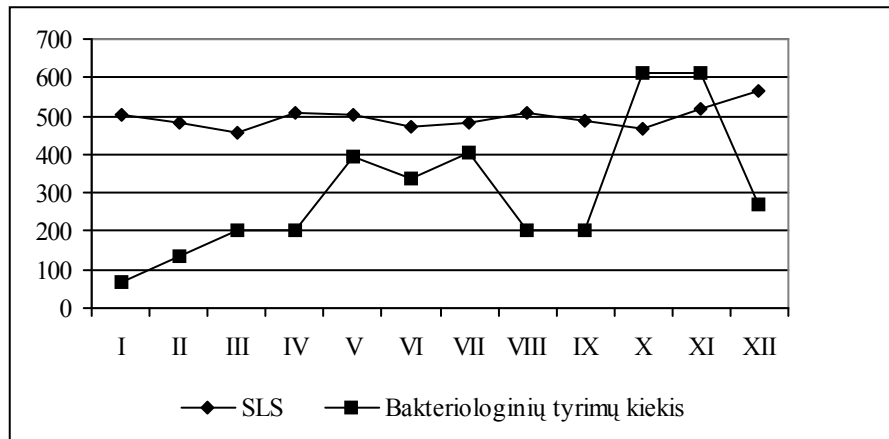
Pagal 2 lentelėje pateiktus duomenis *S. agalactiae* kaip mastito sukėlėjas 1998–2007 metais identifikuotas vidutiniškai 18,0 proc. atvejų. Apžvelgus visą tiriamąjį laikotarpį matyti, kad *S. agalactiae* patvirtintų atvejų skaičius žymiai svyruoja, tačiau nebuvo žemesnis nei tyrimo pradžioje 1998 m., o paskutiniais tyrimo metais vėl pakilo iki 18,2 proc. 2006 m. ir 17,8 proc. – 2007 m. Analizuodami nustatytų visų mastito sukėlėjų ir infekuotų tik *S. agalactiae* koreliacinę priklausomybę nustatėme,

kad $r=0,9404$. Vadinas, *S. agalactiae* užima tam tikrą pastovią poziciją tarp mastito sukėlėjų.

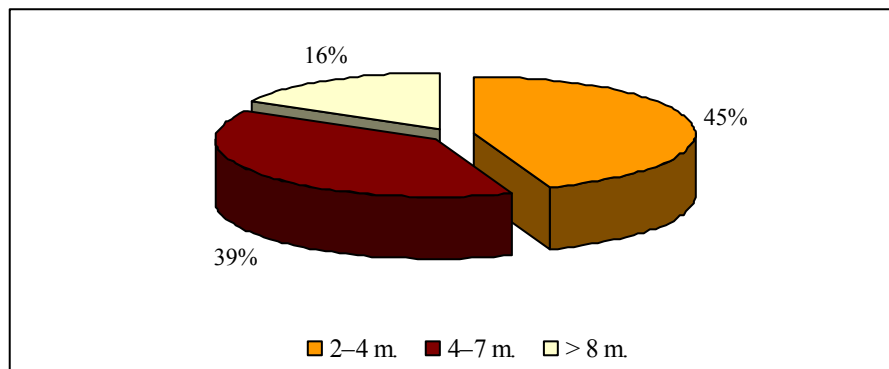
Analizuojant karvių mastito tyrimo duomenis pagal mėnesius, galima teigti, kad statistinio patikimumo ($p>0,05$) tarp SLS atskirais metų laikais nebuvo (2 pav.). Atliktais tyrimais nustatytas vidutinis neigiamas koreliacinis ryšys tarp SLS atskirais mėnesiais ir atliktų bakteriologinių tyrimų skaičiaus ($r=-0,5541$), nes ne visi susirgimai slaptuoju ar klinikiu mastitu tiriami. Tačiau analizuojant 1 pav. duomenis matyti, kad *S. agalactiae* sukeltas mastitas dažniausiai nustatomas gegužės–liepos (ištiriama 28,9 proc. visų *S. agalactiae* sukulto mastito bandinių) ir spalio–lapkričio (31,0 proc. bandinių) mėnesiais.

Analizuodami subklinikių ir klinikių mastitų kieki nustatėme, kad slaptasis mastitas, kurio etiologinis faktorius – *S. agalactiae*, sudarė 94,3 proc. ($r=0,9999$) visų sukeltų mastitų, o klinikius – 5,7 proc. (2 lentelė). Tai rodo, kad dauguma *S. agalactiae* sukeltų mastitų tirama bakteriologiškai dėl didelio somatinių ląstelių kiekio piene nesant būdingos klinikinės išraiškos.

Analizuodami subklinikių ir klinikių mastitų kieki nustatėme, kad slaptasis mastitas, kurio etiologinis faktorius – *S. agalactiae*, sudarė 94,3 proc. ($r=0,9999$) visų sukeltų mastitų, o klinikius – 5,7 proc. (2 lentelė). Tai rodo, kad dauguma *S. agalactiae* sukeltų mastitų tirama bakteriologiškai dėl didelio somatinių ląstelių kiekio piene nesant būdingos klinikinės išraiškos.



1 pav. SLS ir bakteriologinių *S. agalactiae* sukeltų mastitų kiekio kaita atskirais mėnesiais



2 pav. Subklinikiu mastitu sirgusių karvių pasiskirstymas pagal amžių, proc.

Mūsų tyrimais (2 pav.) pagal sukauptus duomenis nustatyta, kad *S. agalactiae* mastitą dažniausiai sukėlė jaunos (2–4 m.) ir vidutinio amžiaus (5–7 m.) karvėms. Statistinio patikimumo tarp šių amžiaus grupių nebuvo ($p>0,05$). Patikimai mažiau ($p<0,05$) *S. agalactiae* infektojų mėginių rasta tiriant vyresnes nei 8 metų karves.

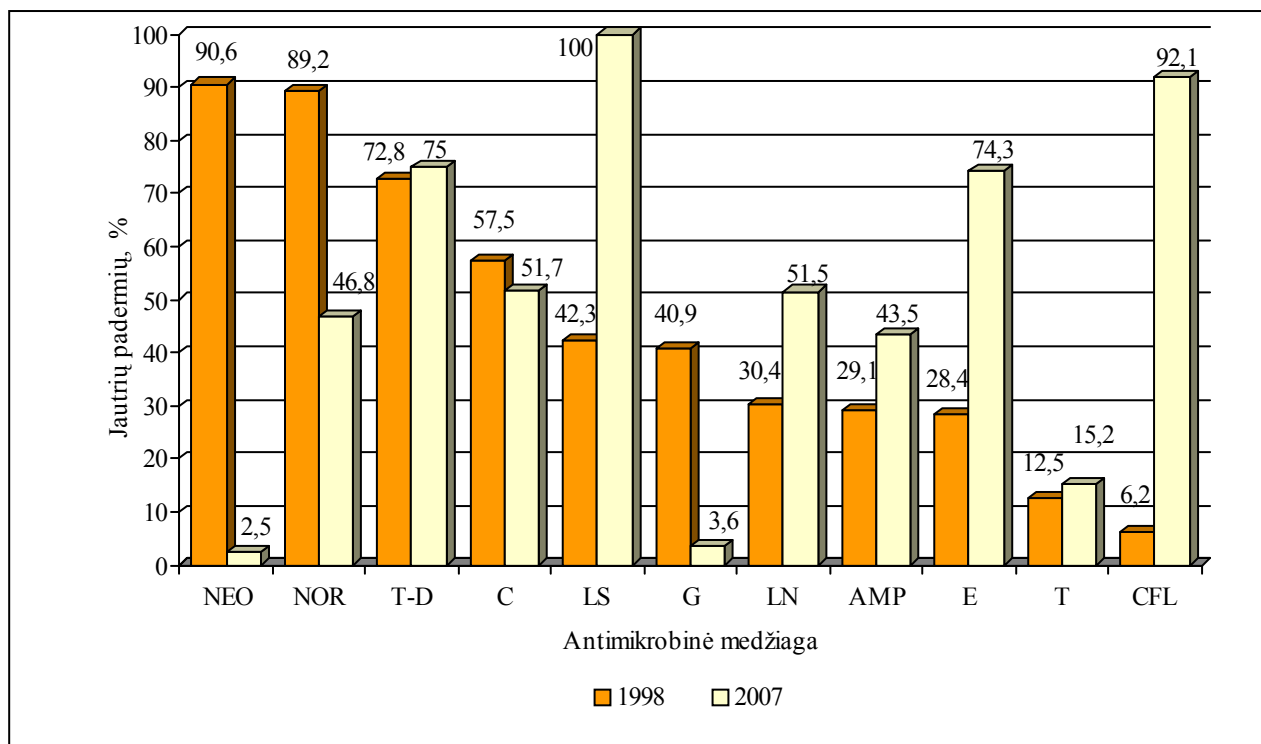
Buvo palyginti analizuojamo laikotarpio pradžioje (1998 m.) ir pabaigoje (2007 m.) *S. agalactiae* išskirtų padermių jautrumas antimikrobinėms medžiagoms (3 pav.). Analizuojamo laikotarpio pradžioje nustatyta, kad išskirtos iš mastitu sergančių karvių pieno, *S. agalactiae* padermės dažniausiai buvo jautrios neomicinui, fluorochinolonams (norfloksacinas) ir kompleksiniam antimikrobiniam preparatui „Tetra-Delta“. Šiek tiek daugiau nei pusė tirtų padermių (57,5 proc.) buvo jautrios cefalosporinų grupės antibiotikui cefaleksinui. Kitoms antimikrobi-

nėms medžiagoms nustatyta daugiau atsparių padermių. Analizuojamo tyrimų laikotarpio pabaigoje, t. y. po 9 metų, daugiausia jautrių *S. agalactiae* padermių buvo linkomicino ir spektinomicino kombinacijai (jautrios visos tirtos padermės), cefalotinui (92,1 proc.), kompleksiniam preparatui „Tetra-Delta“ (75 proc.), eritromicinui (74,3 proc.), linkomicinui (51,5 proc.). Mažiausiai jautrių padermių šiuo tyrimų laikotarpiu rasta aminoglikozidams – neomicinui (2,5 proc.) ir gentamicinui (3,6 proc.). Kai kuriems antibiotikams, kaip antai tetraciklinas, jautrių padermių procentinis kiekis buvo mažas visu tyrimų laikotarpiu.

Rezultatų aptarimas. Realią susirgimų karvių mastitu situaciją parodo kontroliuojamų karvių pieno kokybės tyrimai pagal SLS. Didesnis kaip 200 tūkst. ml somatinių ląstelių skaičius – pagrindinis indikatorius, rodantis, kad

karvė jau serga mastitu. Nuo 1999 m. Lietuvoje įdiegus sistemą, pagal kurią už pieną atsiskaitoma pagal VĮ „Pieno tyrimai“ analizių rezultatus, iš bandų buvo eliminuotos karvės, kurių piene buvo didelis somatinių ląstelių skai-

čius ir kurio mažinimas buvo ekonomiškai nerentabilus (Klimienė ir kt., 2005, J. Rudejeviienė, 2007). Tačiau ir vėlesniais metais kontroliuojamų karvių bandų piene somatinių ląstelių išliko daug.



NEO – neomicinas, NOR – fluorochinolonai, T-D – „Tetra-Delta“, C – cefaleksinas, LS – linkomicinas/spektinomocinas, G – gentamicinas, LN – linkomicinas, AMP – ampicilinas, E – eritromicinas, T – tetraciklinas, CFL – cefalotinas

3 pav. *S. agalactiae* jautrumas antimikrobinėms medžiagoms skirtingu laikotarpiu

Statistiškai patikimi duomenys rodo, kad SLS, subklinikinių mastitų ir patvirtintų *S. agalactiae* atvejų skaičius nepriklauso nuo bakteriologiškai išaiškintų karvių skaičiaus. 2001 m. tirta 4035 karvės (mažiau tirta tik 2002 m. – 3675 ir 2007 m. – 3888), tačiau nustatyti bene didžiausi SLS ($614,5 \pm 52,4$; $p < 0,05$), patvirtintų *S. agalactiae* (427) ir subklinikinių mastitų (406) atvejai. 2005 m., ištyrus daugiausia gyvūnų ($p < 0,05$), nors nustatytas didelis SLS ($617,0 \pm 53,87$; $p < 0,05$), subklinikinių mastitų ir patvirtintų *S. agalactiae* atvejų skaičius mažesnis. Didėja SLS, kuris rodo didesnę karvių sergamumą mastitu, tačiau identifikuoto sukėlėjo – *S. agalactiae* – nėra. Vadinas, priežastis – kiti sukėlėjai.

Taip pat statistiškai patikimi ($p < 0,05$) skirtumai tarp nustatytų sukėlėjų kiekio ir identifikuoto *S. agalactiae* kiekio rodo, kad kitos bakterijos sukelia didesnę infekcimumą. Tačiau pagal duomenis, pateiktus 2 lentelėje ir 1 pav., galima teigti, kad Lietuvos karvių bandose mastito sukėlėjo *S. agalactiae* rūšies bakterijos yra stabiliai išplitusios, ir jų keliama pieno kokybei problema nemažėja.

Palyginus duomenis apie SLS kontroliuojamų karvių piene ir laboratoriškai ištirtų mastitų sirgusių karvių pieno mėginių skaičių (1 lentelė, 2 pav.), nustatyta, kad somatinių ląstelių skaičius karvių piene atvirkščiai koreliuoja su

tirtų bandinių kiekiu ($r = -0,6614$). Ši tendencinga priklausomybė rodo, kad pieninių karvių bandos nėra sanuojamos, sukėlėjas iš bandų neeliminuojamas. Mūsų duomenimis, kasmet didėjant SLS piene, bakteriologinių tyrimų nedaugėja. Taigi galima teigti, kad karvių bandų priežiūrai ir karvių sveikatingumui užtikrinti stokojama dėmesio, ir į tai turėtų būti atsižvelgta planuojant diagnostinius tyrimus ateityje.

Pagal 1 pav. pateiktus duomenis randasi bakteriologinių tyrimų būtinybė, ir *S. agalactiae* infekuotų karvių skaičius pagausėja ganiavos pradžioje ir pabaigoje. Ganiavos pradžioje didėjanti produkcija ir po tvartinio laikotarpio nusilpęs imunitetas, o ganiavos pabaigoje nepalankus temperatūros režimas, artėjantis užtrūkimo laikotarpis sąlygoja mastito pasireiškimą. Tai faktoriai, lemiantys tyrimų kiekį nustatant mastito kilmę.

Mūsų analizuojami duomenys apie karvių amžiaus įtaką *S. agalactiae* sukeltam mastitui patvirtina literatūros duomenis: *S. agalactiae* mastitą dažniau sukelia jaunos, netgi pirmaveršėms karvėms. Jaunų karvių tešmens uždegimų daugėja dėl didėjančio produktyvumo, t. y. dėl intensyvesnės pieno liaukos sekrecijos, kitaip tariant, didėjant produktyvumui padidėja imlumas mastitui (Köster, 2004).

Aptariant mastito formą, pagal mūsų analizę Lietuvoje išlieka slaptojo mastito, t. y. didelio SLS kontroliuojamų karvių piene, problema. Apie Lietuvos karvių bandose slaptojo mastito išplitimą byloja ir A. Žako (2002) atlikti tyrimai, kuriais nustatyta, kad slaptuoju mastitu mūsų šalyje serga 43–47 proc. karvių. Įvairių tyrėjų duomenys rodo, kad 80–97 proc. mastitų bandose yra subklinikiniai, ir, jų teigimu, slaptuoju mastitu karvės serga net 20–50 kartų dažniau nei klinikinį (Peeler et al., 2000; Rosenberg et al., 2002).

Salyse, kur labai didelis dėmesys skiriamas karvių mastitų profilaktikai, *S. agalactiae* sumažėjo (Makovec, Ruegg, 2003). Tuo tarpu Lietuvoje *S. agalactiae* infekcija nustatoma 12,9–23,7 proc. visų tiriamų karvių. Šie tyrimai sutampa su tyrimais atskirose fermose, kur nustatyta, kad 13,49–14,28 proc. atvejų mastitą sukelia streptokokai, o kartu su stafilokokais – net 80,0 proc. (Ramanauskienė ir kt., 2008).

Dažnas įvairių patogeninių, sąlyginai patogeninių ar indikatorinių bakterijų atsparumas antimikrobinėms medžiagoms tampa taisykle. *S. agalactiae* atsparumas taip pat ne išimtis, tą įrodo tyrimų rezultatai. Nors tyrimų pradžioje ir pabaigoje tiriamų bakterijų jautrumas skirtingoms antimikrobinėms medžiagoms buvo nevienodas, aiškių išvadų dėl šios rūšies jautrumo kintamumo daryti negalima, nes neaišku, ar buvo tiriamos tos pačios padermės. Tačiau šis tyrimas pateikė ir reikšmingų duomenų, kuriais remiantis galima teigti, kad *S. agalactiae* jautrumas antimikrobinėms medžiagoms nuolat kinta, o tokia me nedideliame regione kaip Lietuva padermių jautrumas gali skirtis. Labai tikėtina, jog tai susiję ir su skirtingomis fermomis, kuriose naudojami nevienodi antibiotikai. Palyginti dažnai šios rūšies bakterijų jautrumas svyravo nuo 30 iki 70 proc., t. y. atskiroms medžiagoms jautrių padermių buvo vidutiniškai apie pusė.

Kitų mokslininkų atlikti analogiški tyrimai taip pat rodo skirtingą streptokokų jautrumą antimikrobinėms medžiagoms. Pavyzdžiui, skirtingu tyrimų laikotarpiu atsparių streptokokų padermių skaičius Ispanijoje kito nuo 0 iki 31,8 proc. (Granizo et al., 2000). Remiantis tokiais rezultatais galima teigti, kad pasireiškus mastitams reikėtų ne tik nustatyti sukėlėją ir jį išaiškinti, bet ir būtinai atlikti antibiotikogramą. Priešingu atveju gydymas labai dažnai (vidutiniškai apie 50 proc. atvejų) gali būti neefektyvus. Dažnai jautrios atskiroms antimikrobinėms medžiagoms, ypač toms, kurios naudojamos ir žmonėms gydyti, *S. agalactiae* yra rimta problema. Ypač verčia nerimauti padidėjęs šių bakterijų atsparumas aminoglikozidų grupės antibiotikams gentamicinui ir neomicinui, kurie yra svarbūs ir gydant žmones. Padidėjęs atsparumas tetraciklinams jau tampa dėsningu, nes šios grupės antibiotikai buvo naudojami gana intensyviai ir ilgą laiką. Yra duomenų, kad ir kitų rūšių bakterijos, išskirtos iš gyvūnų Lietuvoje, dažnai pasižymi padidėjusiu atsparumu tetraciklinams (Ružauskas et al., 2006).

Taikant praktikoje tyrimų rezultatus reikia atsižvelgti ir į tai, kad jie rodo tiriamų padermių jautrumą *in vitro*. Klinikinis efektyvumas naudojant antibiotikus *in vivo* kartais gali kiek kisti. Pavyzdžiui, aprašyta, kad „Tetra-Delta“ kompleksinis vaistas, kuris *in vitro* rodė puikų

antibakterinį veikimą, praktikoje nebuvo pakankamai efektyvus (Wilson et al., 2004). Rezultatyvus mastitais sergančių gyvūnų gydymas antibiotikais priklauso ne tik nuo sukėlėjų jautrumo antibiotikams, bet ir uždegimo pobūdžio, antibiotiko išvirkštimio vietos, galimų asocijuotų infekcijų bei gydymo kurso. Dėl netaisyklingai naudojamų antibiotikų ir sulfonamidų atsiranda jiems atsparių mikroorganizmų padermių, sutrinka nepatogeninių tėsšmens mikroorganizmų santykis (Rudejevienė, 2007).

Išvados

1. *S. agalactiae* sukelia vidutiniškai 18,04 proc. visų karvių mastitų. *S. agalactiae* sukelia mastitus dažniau jaunoms ir vidutinio amžiaus karvėms, iš jų 94,3 proc. – slaptuosius.

2. *S. agalactiae* sukeltas mastitas dažniausiai nustatomas gegužės–liepos (ištiriama 28,9 proc. visų *S. agalactiae* sukeltos mastito bandinių) ir spalio–lapkričio (31,0 proc. bandinių) mėnesiais.

3. *S. agalactiae* jautrumas skirtingoms antimikrobinėms medžiagoms varijuoja ir nėra dėsningas. Dažniausiai atsparumas nustatytas tetraciklinams ir aminoglikozidams, nors visais atvejais rekomenduojama atlikti antibiotikogramą dėl sunkiai nuspėjamo atskirų šios rūšies bakterijų padermių jautrumo.

Literatūra

- Bansal B. K., Hamann J., Grabowskit N. T. et al. Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitic quarters, and its significance for mastitis diagnosis. *Dairy Res.* 2005. Vol.72. P. 144–152.
- Baywater R., Deluyker H., Deroover E., de Jong A., Marion H., McConville M., Rowan T., Shryock T., Shuster D., Thomas V., Valle M. and Salters J. A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals. *J. Antimicrob. Chemother.* 2004. N. 54. P. 744–754.
- Deluyker H. A., Van Oye S. N., Boucher J. F. Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating cows. *J Dairy Sci.* 2005. Vol. 88. P. 604–614.
- Djabri B., Bareille N., Beaudeau F., Seegers H. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Vet Res.* 2002. Vol. 33. P. 335–357.
- Ferguson J. D., Azzaro G., Gambina M., Licitra G. Prevalence of mastitis pathogens in Ragusa, Sicily, from 2000 to 2006. *J Dairy Sci.* 2007. Vol. 90. P. 5798–5813.
- Granizo J. J., Aguilar L., Casal J., Dal-Re R., Baquero F. *Streptococcus pyogenes* resistance to erythromycin in relation to macrolide consumption in Spain (1986-1997). *J. Antimicrob. Chemother.* 2000. Vol. 46. P. 959–964.
- Jemeljanovs A., Bluzmanis J., Mozgis V. Udder Inflammation, their Agents, Treatment and Preven-

- tion. Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland. Sresa, 2000. P. 339–341.
8. Keefe G. P. *Streptococcus agalactiae* mastitis: a review. *Can. Vet. J.* 1997. Vol. 38. P. 429–437.
9. Klimienė I., Mockeliūnas R., Butrimaitė-Ambrozevičienė Č. ir kt. Karvių mastitas. Tyrimai Lietuvoje. *Veterinarija ir zootechnika*. 2005. N. 31. P. 67–76.
10. Köster G. Einflüsse auf die Eutergesundheit und Verbreitung von Mastitiserregern sowie deren Resistenzlage in Brandenburger Milchviehbetrieben. Inaugural-Dissertation. Berlin. 2004. S. 147.
11. Makovec J. A., Ruegg L. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *J Dairy Sci.* 2003. Vol. 86. P. 3466–3472.
12. Malinowski E., Lassa H., Kłossowska A., Markiewicz H., Kaczmarowski M., Smulski S. Relationship between mastitis agents and somatic cell count in foremilk samples. *Bull Vet Inst Pulawy*. 2006. Vol. 50. P. 349–352.
13. Peeler E. J., Green M. J., Fitzpatrick J. L., et al. Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. *J Dairy Sci.* 2000. N. 83. P. 2464–2472.
14. Pitkälä A., Haveri M., Pyörälä S., Myllys V., Honkanen-Buzalski T. Bovine mastitis in Finland 2001 – Prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J Dairy Sci.* 2004. Vol. 87. P. 2433–2441.
15. Ramanauskienė J., Sederevičius A., Aniulis E. Karvių klinikinio mastito gydymo efektyvumo tyrimai. *Veterinarija ir zootechnika*. T. 41 (63). 2008. P. 80.
16. Rosenberg J. B., Love B., Patterson D. L. Bacterial cure and somatic cell count response of dairy cows with a positive California Mastitis Test at calving to therapy with cephapirin sodium. *Vet Ther.* 2002. Vol. 3. P. 381–386.
17. Rudejeviene J. Karvių slaptasis mastitas. Kaunas. 2007. P. 11–45.
18. Roesch M., Perreten V., Doherr M. G., Schaeren W., Schällibaum M. and J. W. Blum. Comparison of Antibiotic Resistance of Udder Pathogens in Dairy Cows Kept on Organic and on Conventional Farms. *J Dairy Sci.* 2006. Vol. 89. P. 989–997.
19. Ružauskas M., Klimienė I., Zienius D. Survey of antimicrobial susceptibility among some pathogenic and commensal bacteria isolated from pigs. *Medycyna Weterynaryjna*. 2006. Vol. 62. P. 397–400.
20. Tenhagen B. A., Köster G., Wallmann J., Heuwiesser W. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J Dairy Sci.* 2006. Vol. 89. P. 2542–2551.
21. Wilson D. J., Gonzales R. N., Hertl J., Schulte H. F., Bennett G. J., Schukken Y. H., Gröhn Y. T. Effect of clinical mastitis on the lactation curve; a mixed model estimation using daily milk weights. *J Dairy Sci.* 2004. Vol. 87. P. 2073–2084.
22. Žakas A. Genetinių ir aplinkos veiksnių įtaka karvių pieno kokybei pagal somatinių ląstelių skaičių. Daktaro disertacija. Kaunas, 2002. 104 p.

Gauta 2008 11 13

Priimta publikuoti 2009 06 19