

doi: 10.5219/171

BACTERIA *STAPHYLOCOCCUS* SPP. ISOLATED FROM MASTITIS OF SHEEP AND THEIR ENTEROTOXIGENIC PROPERTIES

František Zigo, Milan Vasil', Marián Kadáši, Juraj Elečko, Zuzana Farkašová

ABSTRACT

In our study was followed occurrence of staphylococcal mastitis in herd of 350 sheep during one lactation season. We found, the bacteria *S. schleiferi* was identified in 88 from all 204 isolates. In high number were identified also *S. caprae* (33), *S. chromogenes* (21), *S. aureus* (19), *S. epidermidis* (17), respectively. Important was occurrence *S. intermedius*, *S. simulans*, *S. xylosus* a *S. warneri*, too. The *Staphylococcus* spp. caused latent and subclinical forms of mastitis predominantly, showed into subacute mastitis (26.5%). Acute mastitis was determined in 7.8 %. Eight bacteria *S. aureus*, two *S. chromogenes*, and two *S. epidermidis* produced staphylococcal enterotoxins

Keywords: *Staphylococcus* spp., sheep mastitis, staphylococcal enterotoxin, SE

ÚVOD

Výskyt mastitíd pri ovciach je v jednotlivých krajinách rôzny. Britskí autori udávajú, že výskyt klinických mastitíd u bahnic pri zabití je od 13 do 50%. Naznačuje to, že dôležitým dôvodom brakovania bahnic v UK je pravdepodobne klinická mastitída. V podmienkach Slovenska podľa našich skúsenosti (preto, že v SR neexistuje komplexný údaj) môžeme konštatovať, že hladiny premorenia bakteriologickými pôvodcami sa pohybujú v rozpätí od 5,6 do 64,5 % (a to v závislosti na celkovej hygiene a technológii chovu), pričom na výskyte mastitíd sa zvyčajne podieľajú hlavne baktérie *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. a koliformné baktérie. V etiológii mastitíd oviec sú v našich podmienkach dominantné *Staphylococcus aureus*, v ostatnom čase hlavne koaguláza-negatívne stafylokoky, avšak na mastitídach malých prežúvavcov sa podieľajú aj baktérie *Streptococcus* spp. (hlavne *S. dysgalactiae* a *Streptococcus uberis*, resp. *S. agalactiae*), baktérie *Pasteurella* spp., *Escherichia coli*, *P. aeruginosa* a *Klebsiella pneumonia*, baktérie *Salmonella* spp., ale aj *Mycoplasma agalactia*, baktérie *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp. a mikroskopické vláknité huby, pričom aspergilóza a candidóza vemená sa vyskytuje najčastejšie po intenzívnej liečbe antibiotikami. Výskyt zápalu mliečnej žľazy oviec v konkrétnom chove je dôsledkom spolupôsobenia viacerých faktorov ako sú etiologické agens (mikroorganizmy), chovateľská vypselosť a organizácia práce, úroveň hygieny ustajnenia, hygieny prvovýroby mlieka, a pod. Snahou je minimalizovať výskyt mastitíd stafylokokovej etiológie a z dôvodu zabezpečenia produkcie zdravotne bezpečného mlieka o požadovanej kvalite (Vasil', 2007).

Riziko spočíva v niektorých vlastnostiach stafylokokov a to takých ako sú faktory patogenity, resp. významnou vlastnosťou baktérií rodu *Staphylococcus* je schopnosť produkovať tzv. stafylokokové enterotoxíny (Bergdoll, 1991).

Počas mnohých rokov produkcia enterotoxínov bola spájaná hlavne s kmeňmi druhu *Staphylococcus aureus*. Viacerí autori uvádzajú, že aj ostatné druhy koagulázo-pozitívnych stafylokokov (ako napr. *S. intermedius*, *S. hyicus*) môžu tvoriť enterotoxíny (Adesiyum et al., 1984; Becker et al., 2001). Aj niektoré koagulázo-

negatívne stafylokoky sú enterotoxigénne (Bautista et al., 1988; Vernozy et al., 1996; Beatriz et al., 2006).

Cieľom práce bolo zistiť výskyt druhov rodu *Staphylococcus* a ich podiel na jednotných formách mastitíd v sledovanom chove počas sezóny dojenia a označiť baktérie produkujúce stafylokokové enterotoxíny

MATERIÁL A METÓDY

Individuálne vzorky ovčieho mlieka boli odoberané v priebehu roka trikrát pri komplexných vyšetreniach stáda (na začiatku, v polovici a na konci sezóny dojenia v dojárni). Bakteriologické vyšetrenie vzoriek mlieka a vyšetrenie mliečnej žľazy boli vykonané podľa Hariharana et al. (2004). Taxonomické zatriedenie druhov stafylokokov sa vykonalo STAPHY- testom 24 (Pliva-Lachema, Brno, ČR).

Identifikácia génov kódujúcich stafylokokové enterotoxíny (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*) bola vykonaná metódou PCR podľa Becker et al. (1998). DNA bola separovaná pomocou QiAMP tissue kit-u (OIAGEM, Hilden, Germany). Pre kontrolu výsledkov PCR metódy boli použité referenčné kmene pre typy: SEA, SEB SEC, SED, SEE (Bergdoll; CNCTC, Brno). Pre detekciu génov boli použité oligonukleotidové primery *sea* až *see* (Becker et al., 1998). Dôkaz produkcie SE *in vitro* bol u každého kmeňa s potvrdeným génom vykonávaný ELISA metódou testovacím setom Ridascreen® Set A,B,C,D,E (R-Biopharm AG, Darmstadt, Nemecko) podľa návodu výrobcu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tabuľke 1 je uvedený podiel baktérií *Staphylococcus* spp. na klinických mastitídach oviec počas sezóny dojenia. Z výsledkov je zrejme, že dominantnou baktériou rodu *Staphylococcus* z 204 identifikovaných bol *S. schleiferi* (88), pričom významný podiel mali ja baktérie *S. caprae* (33), *S. chromogenes* (21), *S. aureus* (19), *S. epidermidis* (17) a nezanedbateľný bol aj výskyt *S. intermedius*, *S. simulans*, *S. xylosus* a *S. warneri*.

Baktérie *Staphylococcus* spp. sa podieľali hlavne na latentných a subklinických mastitídach, ktoré sa často prejavili klinicky subakútnym zápalom (až v 26,5 %),

potravinárstvo

pričom výskyt akútnych mastitíd bol tiež významný (7,8 %). Odrazom vysokého výskytu mastitíd v chove je 4,4% výskyt chronických, t.j. už neliečiteľných foriem záplv mliečnej žľazy.

Najčastejšie sme produkciu enterotoxínov zaznamenali

pri koagulázo–pozitívnych stafylokokoch, menovite pri *S. aureus*. Z koagulázo–negatívnych stafylokokov sa na produkcii enterotoxínov podieľali *S. chromogenes* a *S. epidermidis*.

Tabuľka 1 Výskyt infekčných mastitíd v chove oviec počas sezóny dojenja

Bakteriálny pôvodcovia mastitíd			Formy mastitíd									
Druh	Celkom		Klinicky zjavná						subklinická		latentná	
			subakútna		akútna		chronická					
	Σ	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Staphylococcus</i> spp.	204	20,0	54	5,29	16	1,57	9	0,89	51	5,0	74	7,25
<i>Streptococcus</i> spp.	27	2,64	11	1,01	1	0,1	3	0,29	5	0,49	7	0,67
<i>Bacillus</i> spp.	22	2,16	1	0,1	0	0	1	0,1	3	0,29	17	1,67
<i>E. coli</i>	10	0,98	2	0,19	0	0	2	0,19	2	0,19	4	0,39
<i>Enterococcus</i> spp.	9	0,89	3	0,29	0	0	1	0,1	2	0,19	3	0,29
<i>Corynebacterium</i> spp.	8	0,78	4	0,39	0	0	0	0	2	0,19	2	0,19
<i>Proteus</i> spp.	4	0,39	0	0	0	0	1	0,1	1	0,1	2	0,19
<i>Arcanobacterium</i> spp.	3	0,29	1	0	0	0	0	0	1	0,1	1	0,1
<i>Rhodococcus</i> spp.	2	0,19	2	0,19	0	0	0	0	0	0	0	0
pozit.	289	28,33	78	7,64	17	1,67	17	1,67	67	6,57	110	10,7
negat.	731	71,66										
spolu	1020	100										

n – počet bahnic

Tabuľka 2 Podiel baktérii *Staphylococcus* spp. na klinických mastitídach oviec počas sezóny dojenja

<i>Staphylococcus</i> spp.	Formy mastitíd											
	Celkom		Klinicky zjavná						subklinická		latentná	
	Σ	%	subakútna		akútna		chronická		n	%	n	%
			n	%	n	%	n	%				
<i>S. schleiferi</i>	88	43,1	17	8,3	9	4,4	3	1,5	19	9,3	40	19,6
<i>S. caprae</i>	33	16,2	11	5,4	0	0	0	0	7	3,4	15	7,4
<i>S. chromogenes</i>	21	10,3	8	3,9	1	0,5	1	0,5	5	2,5	6	2,9
<i>S. aureus</i>	19	9,3	9	4,4	3	1,5	1	0,5	4	2,0	2	1,0
<i>S. epidermidis</i>	17	8,3	3	1,5	0	0	2	1,0	10	4,9	2	1,0
<i>S. intermeius</i>	7	3,4	1	0,5	0	0	1	0,5	1	0,5	4	2,0
<i>S. simulans</i>	6	2,9	1	0,5	2	1,0	0	0	2	1,0	1	0,5
<i>S. xylosus</i>	6	2,9	2	1,0	1	0,5	0	0	2	1,0	1	0,5
<i>S. warneri</i>	5	2,5	1	0,5	0	0	0	0	1	0,5	3	1,5
<i>S. lentus</i>	2	0,98	1	0,5	0	0	1	0,5	0	0	0	0
spolu	204	100	54	26,5	16	7,8	9	4,4	51	25,0	74	36,3

n- počet bahnic

Tabuľka 3 Výskyt stafylokokových enterotoxínov a génov pre produkciu stafylokokových enterotoxínov u baktérii *Staphylococcus* sp. (n = 204) v chove oviec

<i>Staphylococcus</i> spp.	produkcia enterotoxínov			prítomnosť génov		
	SEC	SED	SEE	sec	sed	see
<i>S.aureus</i> (9)	4	3	1	6	3	1
<i>S.chromogenes</i> (3)	1	1		2	1	
<i>S.epidermidis</i> (3)	1		1	1		2
celkom	6	4	2	9	4	3

ZÁVER

V súčasnej dobe sa venuje veľká pozornosť tzv. Výskyt stafylokokových mastitíd v chove oviec počas jednej sezóny dojenia bol nasledovný:

- v rámci 204 izolovaných baktérií *Staphylococcus* spp. boli dominantné *S. schleiferi* (88), potom baktérie *S. caprae* (33), *S. chromogenes* (21), *S. aureus* (19), *S. epidermidis* (17).
- významný bol aj výskyt *S. intermeius*, *S. simulans*, *S. xylosum* a *S. warneri*.

Staphylococcus spp. spôsobovali hlavne mastitídy s latentným a subklinickým priebehom a subakútnym zápalom sa prejavili 26,5 % a výskyt akútnych mastitíd bol 7,8 %,

Enterotoxíny najčastejšie produkoval *S. aureus* (8 baktérií) a 4 baktérie koagulázo–negatívnych stafylokokov: *S. chromogenes* (2) a *S. epidermidis* (2).

LITERATÚRA

ADESIYUM, A. A., TATINI, S. R., HOOVER, D. G., 1984. Production of enterotoxins by *Staphylococcus hyicus*. In *Veter. Microbiol.*, vol. 9, 1984, p. 487-495.

BAUTISTA, L., GAYA, P., MEDINA, M., NUNEZ, M., 1988. A quantitative study of enterotoxin production by sheep milk staphylococci. In *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 54, 1988, p. 566-569.

BEATRIZ, M., BORELLI, E. G., FERREIRA, I. C., LACERDA, D. A., SANTOS, L. S., CARMO, R. S., DIAS, M., CRISOLITA C., SILVA, C. A., 2006. Enterotoxigenic *Staphylococcus* spp. and other microbial contaminants during production of Canastra cheese, Brazil. In *Braz. J. Microbiol.*, vol. 37, no. 4, 2006, p. 545-550.

BECKER, K., ROTH, R., PETERS, G., 1998. Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic syndrome toxin-1 gene. In *J. Clin. Microbiol.*, vol. 36, 1998, p. 2548-2553.

BECKER, K., KELLER, B., VON E. C., BRÜCK, M., LUBRITZ, G., ETIENNE, J., PETERS, G. 2001. Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus intermedius*. In *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 67, 2001, p. 5551-5557.

BERGDOLL, M. S., 1991. *Staphylococcus aureus*. In *J. of the Assoc. of Offic. Analyt. Chemists*, vol. 74, no. 4, 1991, p. 706-710.

HARIHARAN, H., DONACHIE, W., MACALDOWIE, C., KEEFE G., 2004. Bacteriology and somatic cell counts in milk samples from ewes on a Scottish farm. In *Can. J. Vet. Res.*, July, vol. 68, no. 3, 2004, p. 188-192.

VASIL, M., 2007. Aetiology of mastites and enterotoxin production by *Staphylococcus* spp. isolated from milk of two sheep herds. In *Slovak J. Anim. Sci.*, vol. 40, 2007, p. 189-195.

VERNOZ, Y., ROZAN, D. C., MAZURY, C., PREVOST, G., LAPEYRE, C., BES, M., BRUN, Y., FIEURETTE, J., 1996. Enterotoxin production by coagulase- negative staphylococci isolated from goat's milk a cheese. In *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 30, 1996, p. 271-280.

Acknowledgments:

This work was supported by grant APVV-0629-07 and APVV-0679-10.

Contact address:

František Zigo, Department of Nutrition, Dietetics and Animal Husbandry, Institute of Animal Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 71, 041 81 Košice, Slovakia

Milan Vasil, Department of Nutrition, Dietetics and Animal Husbandry, Institute of Animal Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 71, 041 81 Košice, Slovakia, E-mail: vasil@uvm.sk

Marián Kadáši, Department of Nutrition, Dietetics and Animal Husbandry, Institute of Animal Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 71, 041 81 Košice, Slovakia

Juraj Elečko, Department of Nutrition, Dietetics and Animal Husbandry, Institute of Animal Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 71, 041 81 Košice, Slovakia, E-mail: elecko@uvm.sk

Zuzana Farkašová, Department of Nutrition, Dietetics and Animal Husbandry, Institute of Animal Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenského 71, 041 81 Košice, Slovakia, E-mail: farkasova@uvm.sk