

SPRAWOZDANIE ROCZNE

1. Nazwa instytucji: Instytut Zootechniki - PIB
Zakład Hodowli Bydła

1.2. Nazwa projektu:
**OGRANICZENIE ZAPADALNOŚCI KRÓW MLECZNYCH NA *MASTITIS* W
OKRESIE LAKTACJI I ZASUSZANIA POPRZEZ STOSOWANIE
EKOLOGICZNYCH PREPARATÓW DO DIPPINGU STRZYKÓW**

1.3. Kierownik projektu oraz wykonawcy

dr hab. Piotr Wójcik
dr hab. Iwona Radkowska,
dr inż. Grzegorz Skrzyński ,
dr inż. Agata Karpowicz

1.4. Jednostka realizująca projekt oraz jednostki wykonujące usługi

Instytut Zootechniki PIB, Zakład Hodowli Bydła,
Centrum Badań Mikrobiologicznych i Autoszczepionek Kraków,
Zakład Doświadczalny IZ Chorzelów Sp. z o.o.,
Ekologiczne Gospodarstwo Rolne Grabowo -Marian Nowak,
Fundacja Polska Farma Ekologiczna „Ekofarm” Wyczechowo,
Usługi weterynaryjne „Zoomed”.

1.5. Okres realizacji projektu: od 06.04.2021 do 15.11.2021

1.6. Nazwa miejscowości i data zakończenia opracowania:

Balice, 15. 11. 2021 rok

2. Informacja o przebiegu i realizacji projektu.

2.1. Cel badań

Celem badań było opracowanie ekologicznego preparatu do dippingu strzyków krów mlecznych w okresie laktacji oraz zasuszania. Uzyskanie skutecznej metody zwalczania patogenów wywołujących zapalenie strzyków i *mastitis* poprzez zastosowanie preparatu ekologicznego.

2.2. Wstęp

Przy obecnie istniejących przepisach prawnych w gospodarstwach ekologicznych nie wolno stosować preparatów i substancji na bazie antybiotyków. Tym samym stosowanie farmaceutyków ogranicza się tylko do ratowania życia zwierzęcia i podawane jest sporadycznie. W metodach konwencjonalnej hodowli bydła mlecznego powszechne jest stosowanie antybiotyków osłonowych, zwłaszcza w okresie zasuszania ale też i laktacji krów mlecznych. W ekologii pozostaje tylko prewencja i stosowanie wybranych ekstraktów ziół. Na rynku mamy obecnie duży wybór preparatów ziołowych, których rolą jest podwyższanie odporności nabytej zwierząt, a powszechną formą zadawania ich jest pójło lub pasza sypka. Jak wykazały badania, skuteczność ich jest na różnym poziomie i uzależniona jest nie tylko od odpowiedzi osobniczej zwierząt, ale także ogólnych warunków środowiskowych jakie panują wokół nich. Przy dużych niedoborach dobrostanowych może dochodzić do bardzo niskiego ich działania profilaktycznego, a tym samym wzrostu ilości zachorowań i zapaleń wymienia. Na krajowym rynku obecnie ma nie dostępnych żadnych preparatów ziołowych dedykowanych dla krów ekologicznych w okresie laktacji i zasuszania, mogących działać osłonowo na strzyki. Używa się ogólnodostępnych preparatów dippingowych, które nie powinny być stosowane w ekologii, jednak z braku innych hodowcy często decydują się na ich stosowanie nie informując o tym fakcie jednostek certyfikujących. Od lat podnosi się ten problem na licznych konferencjach i szkoleniach, jednak nikt nie podjął się badań i opracowania dla tej grupy hodowców takich preparatów. W konsekwencji część stosuje, druga część hodowców nie stosuje niczego, co prowadzi do licznych zapaleń wymienia i pozyskiwania niskiej jakości mleka ze względu na zbyt wysoki poziom komórek somatycznych w mleku.

Poziom komórek somatycznych w mleku jest nie tylko odpowiedzią organizmu na stany zapalne gruczołu mlekowego, ale także bardzo dobrym wskaźnikiem jego zdrowotności. Na podstawie poziomu komórek somatycznych określa się, czy mleko można zakwalifikować do produktu zdrowego i bezpiecznego dla człowieka /do 400 tys. SCC/ml/ czy też, nie nadaje się ono do obrotu handlowego i powinno być zlikwidowane lub przeznaczone do zużycia w obrębie gospodarstwa po odpowiedniej obróbce termicznej. Poziom komórek somatycznych od krów zdrowych wynosi poniżej 200 tys./ml, jednak Schepers i wsp. /1997/ uważają tę liczbę za wartość progową, podczas gdy Kherli i Shuster /1994/ przyjmują 100 tys. za wartość progową. Zaobserwowano istotnie wyższy poziom SCC w okresie wyższych temperatur w lecie niż w zimie /Malinowski 1996/. Zgodność autorów /Borkowska i Janus 2001, Dankow i wsp. 2002, Stenzel i wsp. 2003/ co do wpływu systemu pastwiskowego na poziom komórek somatycznych w mleku nie jest jednak jednoznaczny. Z drugiej strony samo gospodarstwo i system utrzymania zwierząt /Janus i Borkowska 2008/, zmniejsza lub zwiększa możliwości powstania infekcji bakteryjnych. Badania dotyczące fenotypu bydła i wpływu jego na zdrowotność wymion wykazały, że długość strzyków powyżej 8,0 cm wielokrotnie zwiększa ryzyko powstawania *mastitis*, dlatego De Jong /1995/ sugeruje, aby mieściły się one w granicach 7-8 cm - przednie i 6-7 cm - tylne - czyli w ocenie pokroju uzyskują noty 5-6 pkt. Optymalna średnica ich to 1,5-3,2 cm przy rozstawie tylnych do 10 cm i przednich do 15 cm. Zdecydowanie lepiej, gdy strzyki mamy za krótkie niż zbyt długie, dlatego krowy, które uzyskały noty 2-5 pkt za długość strzyków są najdłużej użytkowane w stadzie i charakteryzują się niższym poziomem komórek somatycznych w mleku. Kształt wszystkich czterech strzyków

powinien być podobny, długości zbliżone nie krótsze jednak, niż 3 cm i oddalone od podłoża nie mniej niż 30 cm /optimum 45-50 cm/. Odległość ta jest o tyle ważna, że położenie strzyków poniżej 45 cm od podłoża utrudnia zakładanie kubków udojowych, stwarza możliwość infekcji bakteryjnych pochodzących ze ściółki. W badaniach *nad mastitis* niezmiernie ważne jest szybkie i skuteczne zidentyfikowanie patogenów wywołujących zapalenie wymienia. Badania Hynca i wsp. /2006/ wykazały, że 93% próbek przebadanego mleka zawierały drobnoustroje chorobotwórcze. Bezpośrednią przyczyną infekcji były gronkowce wyizolowane w 71% próbek, w tym koagulazoujemne stanowiły 56% a koagulazododatnie 43%. Udział paciorkowców wynosił 25% a grzybów zaledwie 3%.

2.3. Znaczenie projektu

Projekt ma duże znaczenie nie tylko gospodarcze, gdyż zwalcza istniejące zagrożenia sanitarne co do jakości mleka, weterynaryjne gdyż zwalcza patogeny wywołujące choroby wymienia krów ale także społeczne gdyż wpływa na transparentność produkcji mleka ekologicznego. Efektem projektu będzie opracowanie pierwszego preparatu dippingowego dla bydła ekologicznego w okresie produkcji jak i zasuszania.

2.4. Metodyka projektu

W ramach niniejszego projektu badawczego zaplanowano do realizacji w 2021 roku następujące zadania:

Zadanie 1 pt. Opracowanie receptury ziołowego preparatu do dippingu strzyków krów mlecznych wraz z badaniami laboratoryjnymi i testowymi.

Zadanie 2 pt. Badania terenowe określające skuteczność działania opracowanego preparatu wraz z opracowaniem zaleceń i wdrożeniem do praktyki.

W zadaniu 1 w oparciu o wyniki prowadzonych w Instytucie Zootechniki badań naukowych nad wykorzystaniem ziół i preparatów ziołowych w hodowli bydła mlecznego opracowano nowatorskie ekologiczne mieszanki na bazie ekstraktu czosnku, propolisu i ziół w postaci emulsji do dippingu strzyków.

Do opracowania preparatu dippingowego zdecydowano się na użycie czosnku, ponieważ niektóre jego składniki, w szczególności tiosulfoniany, mają silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe przeciwko szerokiej gamie bakterii i grzybów. Głównym związkiem bioaktywnym czosnku jest allicyna. Z racji tego, iż allicyna, jest wytwarzana natychmiast po zmiążdżeniu główki czosnku jest ona aktywnym związkiem występującym w soku ze świeżego czosnku (FGJ), (Lawson, Gardner 2005, Nwachukwu, Asawalam 2014). Ponadto allicyna może również zwiększać przepuszczalność błon komórkowych (Gruhlke et al. 2015). Allicyna ma właściwości bakteriobójcze w stosunku do bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Proponowany substrat do produkcji preparatu dippingowego zawiera maksymalne stężenie allicyny, gdyż w technologii pozyskiwania jej poprzez wyciskanie świeżych ząbków czosnku do szczelnych zamkniętych kadzi uniemożliwia się zajście procesu utleniania. Czas procesu pozyskiwania soku trwa nie dłużej niż 4 godziny, co także warunkuje najwyższe parametry jakościowe soku. W badaniach wykorzystano odmianę czosnku „Harnaś” ze względu na jego dużą dostępność w Polsce, jak również możliwość produkcji w warunkach ekologicznych, co jest warunkiem zakupu. Czosnek pochodzenia polskiego, w porównaniu z chińskim, charakteryzuje się wyższą efektywnością chelatowania jonów Fe²⁺ (Matysiak i wsp. 1999), także największą zawartością suchej masy w porównaniu z odmianami ‘Arkus’, ‘Jankiel’ oraz z czosnkiem chińskim i ekologicznym. Ekstrakty z polskiego i z chińskiego czosnku wykazywały podobną zdolność do wyłapywania toksyn. Ekstrakt z czosnku polskiego silniej wyłapywał (chelatował) jony żelaza(II), a ekstrakt z czosnku chińskiego jony

miedzi(II). Dodatkowym argumentem i unikatem na rynku krajowym jest konserwacja soku kwasami dopuszczonymi przez Unię Europejską dla produktów ekologicznych. Tym, samym, czosnek pochodzący z upraw certyfikowanych i konserwowany dopuszczonymi kwasami może być ekologicznym preparatem dedykowanym dla gospodarstw ekologicznych w Polsce. W zaproponowanym soku zastosowano konserwant w postaci kwasu mlekowego, kwasu mrówkowego, kwasu octowego i cytrynowego.

Propolis jest produktem pszczelim pochodzącym z paczków drzew oraz krzewów w postaci żywiczno-balsamicznej substancji nawilżonej wydzieliną pszczoły z głowowych gruczołów ślinowych i gruczołów żuwaczkowych. Wykazuje właściwości przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwzapalne, immunomodulujące i ochronne. Głównymi substancjami bioaktywnymi propolisu są polifenole (flawonoidy i fenolokwasy) oraz terpenoidy (mono-, triseskwiterpeny i steroidy). Propolis w temperaturze niższej od 15°C odznacza się twardą konsystencją i po przełamaniu lub przekrojeniu lekko się kruszy. W temp. 21°C zaczyna mięknąć, a w temp. 30-35°C staje się miękki i podatny do obróbki (wykorzystują to pszczoły w ulu). Temperatura topnienia, w zależności od składu chemicznego, mieści się w granicach 60-75°C. Całkowite upłynnienie surowca zachodzi w temp. 80-105°C. Stosunkowo szeroki zakres temperatur, w których następuje zmiana konsystencji propolisu, zależy między innymi od roślin, regionu geograficznego, pory roku, rasy pszczoł, zawartości wosku pszczelego i dodatków mechanicznych. Na podstawie wielu publikacji można ustalić skład chemiczny propolisu. Zawiera on w przybliżeniu 50% żywic, 10% olejków eterycznych, 22% wosku pszczelego, 8% pyłku kwiatowego i 10% domieszek mechanicznych. Niektórzy autorzy wśród frakcji biologicznie aktywnych surowego propolisu, tj. żywic i olejków eterycznych, stanowiących łącznie około 60% substancji zawartych w tym surowcu, wyróżniają jeszcze balsamy w średniej ilości 12%, garbniki - 7%, wosk roślinny - 8% oraz bliżej nieokreślone substancje organiczne w ilości 8%.

Dodatkowo w preparacie wykorzystano mieszanek wybranych ziół w postaci ekstraktów w celu podniesienia skuteczności preparatu w walce z bakteriami Gram dodatnimi i Gram ujemnymi występującymi na strzykach krów oraz w otoczeniu bytowania zwierzęcia /ściołka/. Dobór ziół opierał się o badania literaturowe, jak również w oparciu o prowadzone w latach ubiegłych w Instytucie Zootechniki badania z zastosowaniem ziół w żywieniu i poprawieniu zdrowotności zwierząt gospodarskich.

W celu realizacji zadania zakupiono wyciąg z czosnku świeżego oraz suszonego, pozyskano wyciąg z propolisu w postaci już odwirowanej emulsji oraz wykorzystano co najmniej 3 ekstrakty ziołowe w różnych wariantach preparatu. Planowano uzyskać preparat na bazie roztworu czosnku o stężeniu 5 i 10%. Pracowano jednocześnie nad opracowaniem stężenia pozostałych substancji czynnych (zioł). W tym celu opracowano 100 mieszanin roztworów w oparciu o przygotowane składniki ziołowe, czosnek oraz propolis w różnych układach ilościowych poszczególnych składników dla roztworów o 10% stężeniu czosnku oraz 8 dla roztworu czosnku 5% (tabela 1 i 2). We wstępnej fazie analiz jakościowych otrzymanych roztworów zrezygnowano z pierwszych 12, a dla pozostałych przeprowadzono sukcesywnie dalsze badania. Tabela 1 oraz 2 prezentuje skład poszczególnych roztworów przeznaczonych do dalszych badań laboratoryjnych. W związku z wytrącaniem się w licznych próbach warstw oraz silnych osadów trudnomieszalnych, wybrane próby zostały poddane wirowaniu o zmiennej ilości obrotów oraz czasie wirowania. Uzyskane roztwory ponownie poddano badaniom pod kątem struktury, czystości i lepkości.

Skład poszczególnych mieszanin do badań dla czosnku 10%

próba	propolis ml	etanol ml	gliceryna ml	glikol polietylenowy	propanediol ml	czosnek ml	mięta ml	rumianek ml	nagietek ml	arnika ml	olejek rokitnikowy mikrl	olejek herbaciany mikrl
13	T	T					T	T	T	T		
14	T	T										
15	T	T						T	T			
16	T	T					T	T	T			
17	T	T							T			
18	T	T										
19	T	T					T	T	T	T		
20	T	T					T	T	T	T		T
21	T	T					T	T	T	T		
22	T	T					T	T	T	T		
24	T	T					T	T		T		
25	T	T					T	T	T	T		
26	T	T					T	T		T		
27	T	T	T			T				T		
28	T	T				T				T		
28	T	T				T				T		
29	T	T				T		T				
30	T	T	T				T			T		
31	T	T	T				T			T		
32	T	T	T				T	T		T		
33	T	T	T					T		T		
34	T	T					T	T	T	T		
35	T	T					T	T	T			
36	T	T					T	T	T			
37	T	T				T		T	T			
38	T	T					T	T	T	T		T
39	T	T				T	T	T	T	T		T
40	T	T				T	T	T	T	T		T
41	T	T				T		T	T			
42	T	T				T	T	T	T			
43	T	T				T	T	T	T	T		T
44	T			T			T	T	T	T		
45	T				T		T	T	T	T		
46	T	T					T	T	T	T		
13A	T	T				T	T	T	T	T	T	
13B	T	T					T	T	T	T	T	
13C	T	T				T	T	T	T	T		
13CC	T	T				T	T	T	T	T	T	

13D	T	T				T	T	T	T	T		
13DD	T	T				T	T	T	T	T	T	
13E	T	T					T	T	T	T		
13EE	T	T				T	T	T	T	T		
13EEE	T	T				T	T	T	T	T	T	
14A	T	T				T	T	T	T	T		
14B	T	T					T	T	T	T		
14C	T	T				T	T	T	T	T		
14D	T	T				T	T	T	T	T		
14E	T	T				T	T	T	T	T		
14EE	T	T					T	T	T	T		
15A	T	T				T		T	T			
15B	T	T						T	T			
16A	T	T				T	T	T	T			
16B	T	T					T	T	T			
17B1	T	T				T			T			
17B2	T	T							T			
18A	T	T				T						
18B	T	T										
19A	T	T				T	T	T	T	T	T	T
19B	T	T					T	T	T	T	T	T
20A	T	T				T	T	T	T	T		T
20B	T	T					T	T	T	T		T
21A	T	T				T	T	T	T	T		
22A	T	T				T	T	T	T	T		
23A	T	T				T	T	T	T	T		
24A		T				T	T	T		T		
24C	T	T				T	T	T		T		
25 C	T	T				T	T	T	T	T		T
25A	T	T				T	T	T	T	T		
25B	T	T					T	T	T	T		T
26A	T	T				T	T	T		T		
31A	T	T	T			T	T			T		
31AA	T	T	T			T	T			T		
32A	T	T	T			T	T	T		T		
33A	T	T	T			T		T		T		
34A	T	T				T	T	T	T	T		
34B	T	T					T	T	T	T		T
34C	T	T				T	T	T	T	T		T
44A	T			T		T	T	T	T	T		

44B	T			T			T	T	T	T		T
44C	T			T		T	T	T	T	T		T
45A	T				T	T	T	T	T	T		
45B	T				T		T	T	T	T		T
45C	T				T	T	T	T	T	T		T
46A	T	T				T	T	T	T	T		

T- tak

Tabela 2

Skład poszczególnych mieszanin do badań dla czosnku 5%

próba	propolis ml	etanol ml	gliceryna ml	glikol polietylenowy	propanediol ml	czosnek ml	mięta ml	rumianek ml	nagietek ml	arnika ml	olejek rokitnikowy mikrl	olejek herbaciany mikrl
47	T	T				T		T	T			
48	T	T				T	T	T	T			
49	T	T				T	T	T		T		
50	T	T	T			T	T	T		T		
51	T	T				T	T	T		T		
52	T	T				T	T	T	T	T		T
53	T	T				T	T	T	T	T		T
54	T	T	T			T	T			T		

T- tak

W ramach badań dokonano analizy organoleptycznej otrzymanych mieszanin, opisując je i dokumentując fotograficznie (tabela 3-4). Na podstawie obserwacji roztworów w okresie co najmniej 10 dni wytypowano do dalszych badań 9 preparatów (15, 16b, 20b, 24, 25b, 26, 26a, 31, 32). Dodatkowo analizowano trwałość zawiesin, możliwość ich powtórnego wymieszania lub poziom trwałości zawiesiny stałej. Na podstawie tych badań wytypowano kolejne roztwory do dalszych badań pod kątem trwałości i zawieszania się na elementach trwałych, jak imitacja strzyków z tworzywa lub osłony z lateksu lub winylu. Analizowano poziom barwienia poszczególnych elementów przez roztwór. Badania prowadzono jednocześnie dla roztworów zawierających 10% i 5% czosnku (tabela 3-4).

Na podstawie powyższych analiz wytypowano preparaty do badań laboratoryjnych mających określić poziom aktywności ich dla wybranych szczepów stosując poszczególne metody:

1. Dokonano pomiarów aktywności badanych preparatów ziołowych dla *Staphylococcus aureus* metodą studzienkową na agarze Muellera-Hintona, do którego wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *S. aureus* ATCC 29239 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w agarze studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35°C przez 24 godziny.
2. Dla gronkowców koagulozoujemnych (CNS) dokonano pomiarów aktywności analizowanych preparatów ziołowych metodą studzienkową na agarze Muellera-Hintona, do którego wsiano 1 ml szczepów terenowych CNS o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w agarze studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35 °C przez 24 godziny.
3. Dla bakterii *Escherichia coli* pomiar aktywności preparatów ziołowych wykonano metodą studzienkową na agarze Muellera-Hintona, do której wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *E. coli* - kolekcja ATCC 29922 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w podłożu studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35°C przez 24 godziny.

4. Dla paciorkowców kałowych *Enterococcus faecalis* pomiar aktywności preparatów ziołowych wykonano metodą studzienkową na podłożu z 5 % krwią baranią, do którego wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *Enterococcus faecalis* ATCC51299 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w podłożu studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35 °C przez 24 godziny.
5. Pomiarów aktywności preparatów wobec *Streptococcus uberis* dokonano metodą studzienkową na agarze Muellera- Hintona, do którego wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *Str. uberis* ATCC 700407 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w podłożu studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35°C przez 24 godziny.
6. Dla grzybów *Candida krusei* pomiarów skuteczności preparatów ziołowych dokonano metodą studzienkową na podłożu Sabourauda, do którego wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *C. krusei* DBVPG 7235 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w podłożu studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35°C przez 24 do 48 godzin.

W oparciu o wyniki badań wytypowano dwa preparaty do dalszych badań terenowych. W Zakładzie Doświadczalnym Instytutu Zootechniki w Chorzelowie, w gospodarstwie ekologicznym, w tym celu wytypowano krowy w laktacji II-III o znanym statusie zdrowotnym, gdzie nie stosowano nigdy leczenia antybiotykowego i które stale były pod kontrolą jakości mleka oraz zdrowotności wymienia.

Opracowane testowe 2 preparaty dippingowe podawano przez okres 3 tygodni wytypowanej grupie krów po każdy dokonanym doju. W okresie trwania doświadczenia 2.krotnie (na początku oraz na końcu doświadczenia) dokonywano wymazów ze strzyków na określenie ilości i identyfikację patogenów występujących na strzyku oraz w kanale strzykowym. Łącznie pobrano 36 prób w okresie 3 tygodni. Takim samym badaniom poddano także pobrane próby mleka. W okresie co tygodniowym dokonywano analiz jakości mleka pod kątem ilości komórek somatycznych i liczby bakterii w Mobilnym Centrum Analizy Mleka (MCAM) oraz w odstępach co 2-3 dni badania na poziom zdrowotności ćwiartek wymienia przy pomocy urządzenia 4x4Q Mast firmy Dramiński. Przyjęto założenia metodyczne, że metoda pomiarowa w zastosowanym urządzeniu opiera się na badaniu pomiarów oporności elektrycznej mleka ćwiartkowego wynikającego ze zmian (najczęściej wzrostu) w zawartości soli, w tym głównie chlorków, w mleku, mającej decydujący wpływ na zmniejszanie się oporności elektrycznej badanego mleka. Uzyskane rezultaty ocenia się wg dwóch kryteriów:

1. Jaką wartość liczbową uzyskujemy przy badaniu ćwiartek i czy jest to wartość typowa dla badanej krowy (indywidualne ocenianie każdej krowy pod kątem jej wieku),
2. Jak duże są różnice między ćwiartkami u badanej krowy.

Interpretacja wyników opierała się o zasady:

Odczyty poniżej 250 jednostek wskazują wyraźnie na występowanie podklinicznych zapaleń ćwiartki wymienia lub wysokie ryzyko przejścia choroby w stan ostry. Odczyty powyżej 300 jednostek wskazują, że stan ćwiartki wymienia jest dobry. Najczęściej wskazania mieszczą się w przedziale 330-360 jednostek. U krów młodych i w pełni zdrowych wskazania mają wyższy poziom (370-400), a u krów starych spotykane najczęściej rezultaty będą na niższym poziomie (300-320). Odczyty od 250 do 300 jednostek wskazują na stan przejściowy pomiędzy podklinicznym stanem zapalenia wymienia a stanem dobrym. Ze względu na różnice fizjologiczne trudno jest zdefiniować ścisłą granicę, po przekroczeniu której ćwiartka wymienia jest chora.

U niektórych krów odczyt pomiędzy 250 a 300 jednostek, zwłaszcza, jeśli u badanej krowy nie uzyskujemy w ogóle wyższych wskazań, uznajemy za

normalny, ćwiartkę wymienia zaś za zdrową. Jeśli jednak, z pewnych przyczyn u krowy, u której we wcześniejszych odczytach uzyskaliśmy wynik znacznie powyżej 300, nagle obserwujemy spadek wskazań do poziomu 250-300 jednostek to krowę tę należy uznać za zagrożoną zapaleniem wymienia. Różnica większa niż 40-50 jednostek między najwyższym a najniższym rezultatem dla ćwiartek u badanej krowy wskazuje na początki podklinicznego zapalenia wymienia.

Badania laboratoryjne pobranych próbek były prowadzone w lecznicy weterynaryjnej oraz Laboratorium Mikrobiologicznym w Krakowie. W tym celu podczas rutynowego doju na hali udojowej pobierano mleko od krów wytypowanych do doświadczenia, które miały stwierdzone podkliniczne lub kliniczne *mastitis* lub były zdrowe. Materiałem badawczym było mleko pobierane do sterylnych probówek, w celu wykonania wysiewu na cztery różne podłoża hodowlane, trzy bakteryjne selekcyjno-wybiórcze: BA (TSA z 5% krwi baraniej) w kierunku gronkowców, Edwardsa-Chodkowskiego w kierunku paciorkowców, McConkeya w kierunku pałeczek Gram ujemnych i w kierunku grzybów - podłoże Sabraude'a. Wyosobnione gronkowce zostały poddane badaniom lekooporności/wrażliwości na antybiotyki oraz analizie genetycznej z zastosowaniem metody PCR – polimerazowej reakcji łańcuchowej, techniką MLVF (Multiple-Locus Variable Number Tandem Repeat Fingerprinting). Technika ta wykorzystuje obecność zmiennej liczby krótkich tandemowych sekwencji powtórzonych. Wykorzystuje siedem genów, m.in. gen *clfA* kodujący clumping factor A (czynnik zlepiający A), gen *clfB* (odpowiednio czynnik zlepiający B), gen *spa* kodujący białko A, *sspA* kodujący proteinazę serynową V8 oraz locus *sdr* (*sdrC*, *sdrD*, *sdrE*). W wyniku amplifikacji M-PCR tych genów uzyskiwane są różne wzory elektroforetyczne. Metoda ta znalazła zastosowanie do badania lokalnych epidemii.

Ocenę zasilenia wzrostu oznaczono:

- + 1-5 CFU/płytkę (wzrost skąpy)
- ++ 5-50 CFU/płytkę (wzrost mierny)
- +++ 50-100 CFU/płytkę (wzrost średnio obfity)
- ++++ >300 CFU/płytkę niepoliczalne (wzrost obfity)

Po okresie 3 tygodni badań wstępnych wytypowano najbardziej skuteczny preparat, który został skierowany do ekologicznych gospodarstw pilotażowych, gdzie na większej populacji krów mlecznych przeprowadzono w zadaniu 2 zasadnicze badania obejmujące zarówno fazę doju, jak i zasuszenia u krów mlecznych.

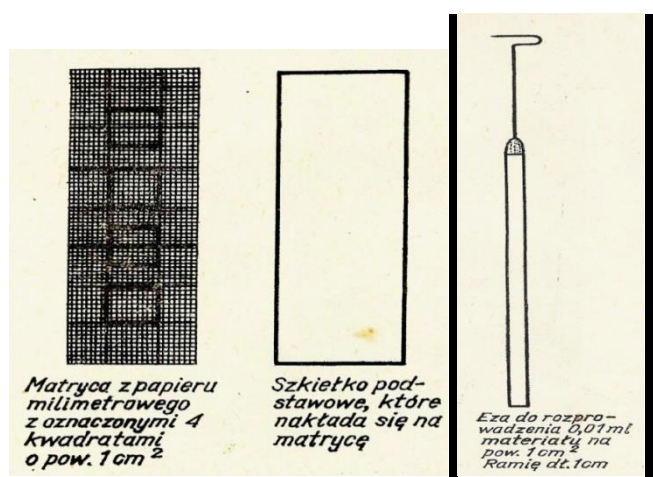
W zadaniu 2 przeprowadzono badania terenowe określające skuteczność działania opracowanego preparatu w wytypowanych gospodarstwach ekologicznych na grupie krów będących w II lub III laktacji. W tym celu w każdym gospodarstwie wytypowano grupę co najmniej 20 sztuk, na której dokonano:

- zdiagnozowano bakterie pochodzących ze zmian *mastitis* u bydła rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej /PHF/, w badanych gospodarstwach ekologicznych,
- zbadano efektywność działania zastosowanego preparat dippingowego ograniczającego występowanie *mastitis* u bydła mlecznego.

W typowanych gospodarstwach w okresie 1 miesiąca stosowano opracowany preparat dippingowy jak również prowadzono badania mikrobiologiczne /wymazy/ oraz jakościowe mleka pod kątem liczby komórek somatycznych i bakterii z użyciem MCAM, u krów na których zastosowano go.

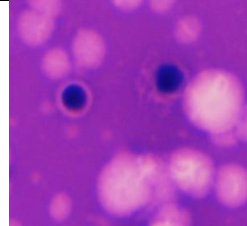
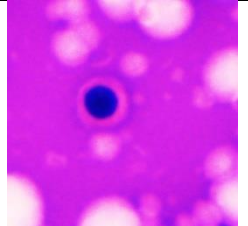
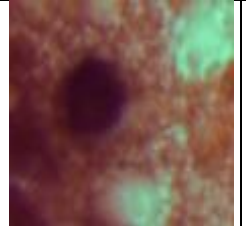

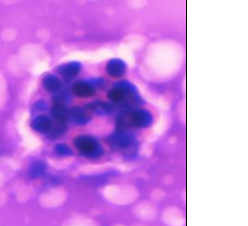
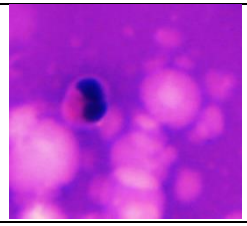
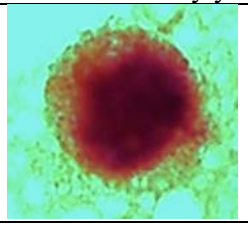
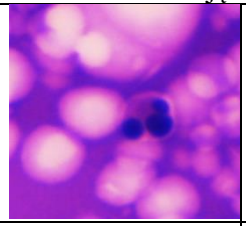
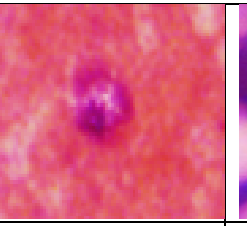
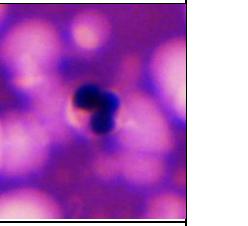
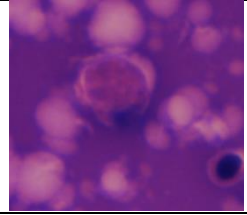
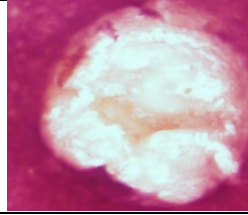
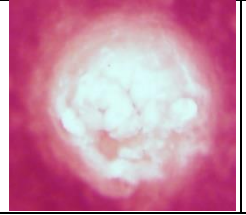
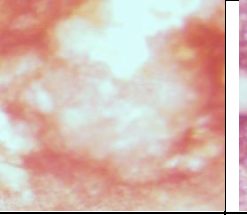
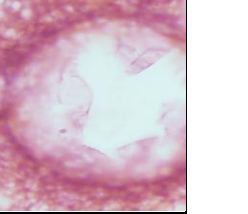
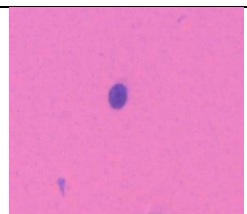
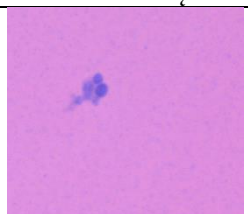
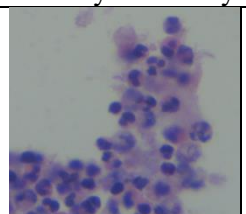
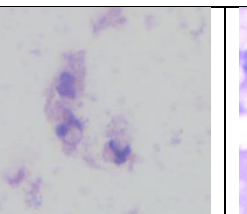
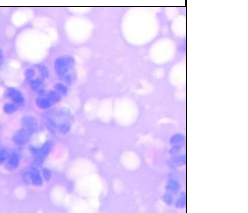
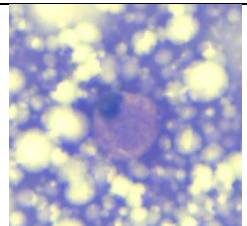
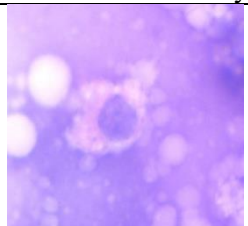
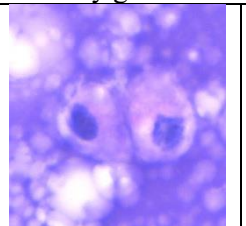

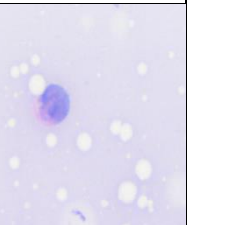
Ilościowe i jakościowe badania cytologiczne mleka przeprowadzono metodą Prescott-Breeda. W tym celu, jałowo pobrane do próbek typu Falcon próbki mleka ćwiartkowego badanych krów homogenizowano w tych probówkach na mikro-wstrząsarce typu Vortex i mikropipetami Ependorf a z plastikowymi końcówki, których otwory mają średnicę > 1 mm nanoszono po 10 µl ocenianej próbki mleka na dokładnie odtuszczone, wytarte oraz odpowiednio oznaczone szkiełka podstawowe. Aby równomiernie rozprowadzić badany materiał na szkiełkach układano je na matrycy (ryc. 1) z papieru milimetrowego i nanoszono je odpowiednio wykalibrowaną eżą (rycina). W ten sposób przygotowane rozmazy zostały osuszone strumieniem suchego powietrza w termostacie o temperaturze < 50°C. Wysuszone preparaty z badanego mleka zostały przez 10 minut odtuszczone ksylenem oraz wstępnie utrwalone preparatem Cytofix' em. Następnie barwiono je złożoną metodą z użyciem hematoksyliny i eozyny. Po czym oglądano pod mikroskopem Jena-val oraz sporządzano mikrografie. W badaniu ilościowym liczą komórki (nabłonkowe i leukocyty) znajdujące się w 10 polach (3:4:3) ocenianej próby o powierzchni 1cm², na których wcześniej rozprowadzono badane próbki mleka, a uzyskany wynik podstawiono do wzoru uwzględniającego współczynnik roboczy mikroskopu: $f = \frac{d}{m \cdot r^2 \cdot \pi \cdot g}$, gdzie d - powierzchnia

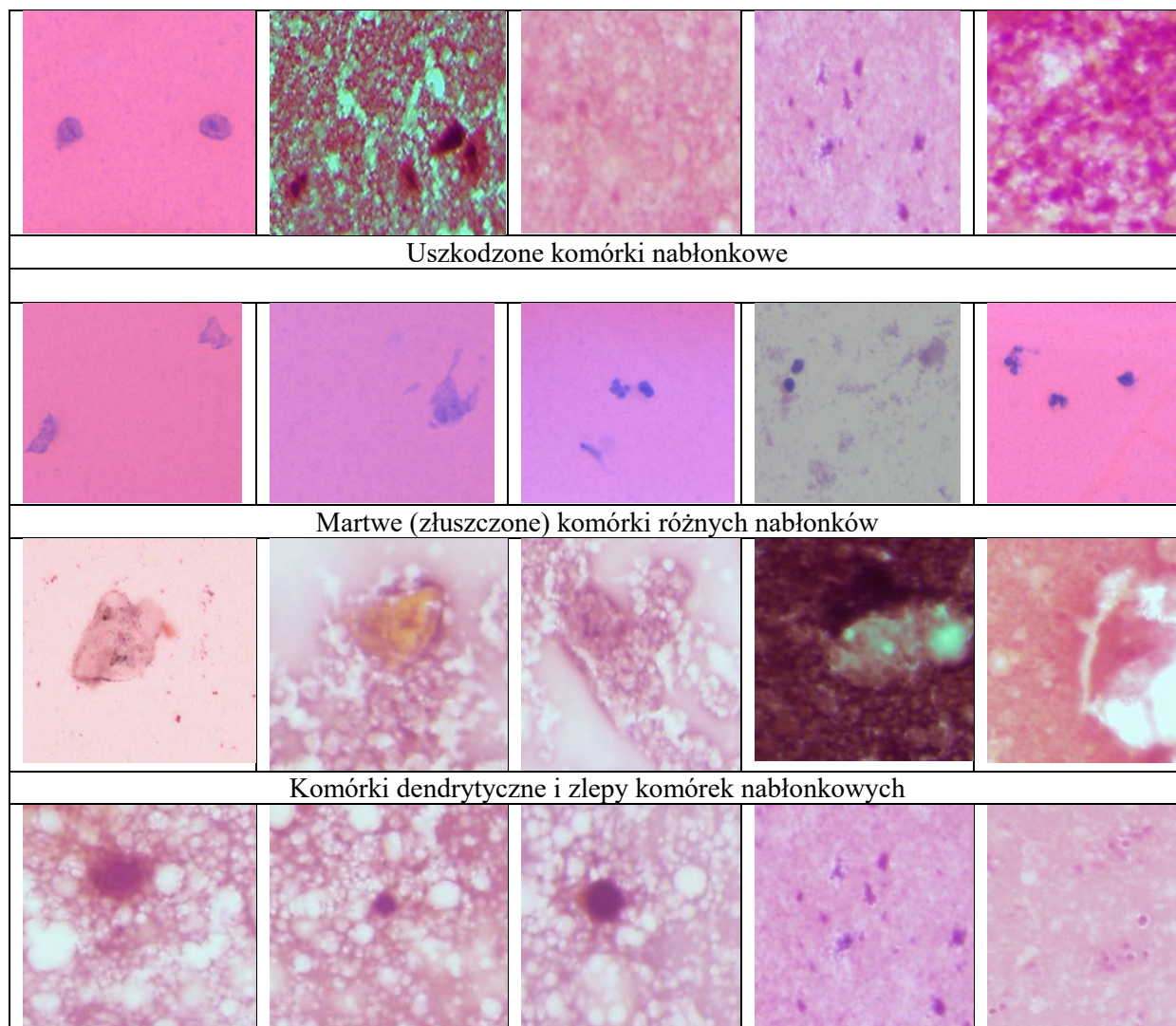
rozmazu, m - ilość mleka rozmazanego (10 µl), r - średnica pola widzenia, g - liczba pól widzenia. W jakościowym badaniu obliczono proporcje między leukocytami (limfocyty, granulocyty oraz monocyty lub makrofagi) oraz różnymi typami komórek nabłonkowych, które wystąpiły w populacji.



Wyniki badań ilościowych określono w tysiącach komórek na mililitr badanej próbki mleka, natomiast uzyskane w badaniu jakościowym proporcje (analogicznie jak w hematologicznym rozmazie) pomiędzy leukocytami (limfocyty, granulocyty i monocyty lub makrofagi) a stwierdzonymi w tych samych preparatach różnymi typami oglądanych komórek nabłonkowych, przeliczono na cyfry. W ten sposób powstał następujący klucz interpretacyjny:

Leukocyty (powiększenie mikroskopu)
Limfocyty

				
limfocyt i kom. nabł. (100x)	limfocyt (150x)	limfocyt mały (400x)	limfocyt duży (400x)	zlep limfocytów
Granulocyty kwasochłonne i obojętnochłonne				
				
eozynofil (100x)	eozynofil (400x)	neutrofil (100x)	neutrofil segmentowany	neutrofil (100x)
Monocyt i makrofagi				
				
monocyt i limfocyt (100x)	makrofagi – komórki piankowe (400x)			
Jądra uszkodzonych leukocytów				
				
jądro limfocytu	Jądro granulocytu	zlepy jąder	uszkodzone granulocyty	jądra granulocytów
Komórki nabłonkowe				
Nabłonek wydzielniczy gruczołu mlecznego				
				
I rzędu (świeży)	II rzędu (starsze)		jeszcze starsze	
Nabłonki przewodów odprowadzających mleko				



Otrzymane wyniki z badań terenowych poddano analizom w tym porównawczym z badaniami wstępnymi w Chorzelowie, w celu wytypowania preparatu do powszechnego stosowania w dippingu bydła mlecznego.

2.5.Literatura

Borkowska D., Janus E. (2001) Wpływ czynników pozagenetycznych na wydajność i skład mleka oraz liczbę komórek somatycznych. Roczn. Nauk. AR Poznań, 53, 25-30

Borkowska D., Janus E. (2010) Ocena wpływu wybranych czynników na liczbę komórek somatycznych w mleku krów rasy Montbeliarde. Acta Sci. Pol.. Zootech. 9,39-46

Danków R., Cais-Sokolińska D., Pikul J. (2002) Jakość cytologiczna mleka surowego w zależności od pory roku, systemu doju i wielkości dostaw. Przegl. Mleczarski, 9,421-424

De Jong G., Lansbergen L., 1996. Udder health and ex: selection for mastitis resistance. Proc. International Workshop on Genetic Improvement of Functional Traits in Cattle, Gembloux, Belgium, 21-23 January 1996. Interbull Bulletin 12, 42-4

Gruhlke M.C., Hemmis B., Noll U., Wagner R., LUhring H., Slusarenko A.J. 2015. The defense substance allicin from garlic permeabilizes membranes of *Beta vulgaris*, *Rhoeo discolor*, *Chara corallina* and artificial lipid bilayers. *Biochim. Biophys. Acta*, 1850(4): 602-611.

Hardeng F. Edge, V L (2001) Mastitis, ketosis, and milk fever in 31 organic and 93 conventional Norwegian dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 84, 2673-2679

Januś E., Borkowska D. (2008) Wpływ wybranych czynników na liczbę komórek somatycznych krów z obór wolnostanowiskowych. *Rocz. Nauk. PTZ*, 4, 137-346

Keherli M. E., Shuster D.E., (1994) factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Sc.* 77,619-627

Lawson L.D., Gardner C.D. 2005. Composition, stability, and bioavailability of garlic products used in a clinical trial. *J. Agric. Food Chem.*, 10;53(16): 6254-61. DOI: 10.1021/jf050536+

Malinowski E. (1996) Letnie zapalenie wymienia. *Med. Wet* 52, 347-346

Matysiak M., Gaweł-Bęben K., Rybczyńska K., Gmiński J., Surma S. 2015. Porównanie wybranych właściwości biologicznych czosnku (*Allium sativum* L.) pochodzącego z polski i chin. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (99): 160-169. DOI: 10.15193/zntj/2015/99/030

Nwachukwu I.D., Asawalam E.F. 2014. Evaluation of freshly prepared juice from garlic (*Allium sativum* L.) as a biopesticide against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Plant Protection Research* 54(2): 132- 138. DOI: 10.2478/jppr-2014-0021.

Sawa A., Neja W., Bogucki M. (2007) Relationships between cytological quality and composition of milk and the effect of some environmental factors on the frequency of recurrent mastitis in cows. *J. Cent. Eur. Agric.* 8:3,295-300

Schepers A.J., Lam T.J.G.M., Schukken Y.H., Wilmink J.B.M., Hanekamp W., B. A. (1997) Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for infected quarters. *Journal of Dairy Science*. 80,1833-1840

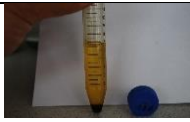

2.6. Wyniki badań

W ramach badań po wytypowaniu składników do tworzonych mieszanin dokonano ich analizy organoleptycznej, opisując je i dokumentując fotograficznie zgodnie z metodyką (tabela 3-4). Na podstawie obserwacji roztworów, w okresie co najmniej 10 dni wytypowano do dalszych badań 9 preparatów (15, 16b, 20b, 24, 25b, 26, 26a, 31, 32). Na tym etapie głównym kryterium był stopień mieszalności się ze sobą poszczególnych składników, stopień rozwarstwienia się roztworu, poziom i wielkość tworzonego się osadu lub zawiesiny, czystość roztworu, przejrzystość roztworu oraz poziom zawieszania się wytrąconych frakcji na ściankach probówek. Dodatkowo analizowano trwałość zawiesin, możliwość ich powtórnego wymieszania lub poziom trwałości zawiesiny stałej. Na podstawie dalszych badań wytypowano kolejne roztwory do dalszych badań pod kątem trwałości i zawieszania się na elementach trwałych, takich jak imitacja strzyków z tworzywa lub osłony z lateksu lub winylu. Analizowano poziom barwienia poszczególnych elementów przez roztwór. Badania prowadzono jednocześnie dla roztworów zawierających 10% i 5% czosnku (tabela 3-4).




Tabela 3



Opis przygotowanych wariantów modelowych preparatów na bazie 10% czosnku.

a. Preparaty nierozwarstwiający się

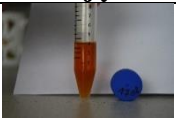


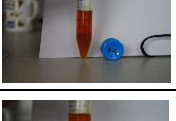
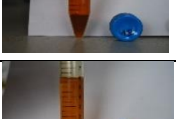

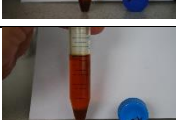



preparat	opis preparatu	zdjęcie
18	preparat jednorodny, bez rozwarstwień, klarowny, ciemnobrązowy, bez oklejenia ścianek	
18B	preparat jednorodny, bez rozwarstwień, klarowny, ciemnobrązowy, bez oklejenia ścianek	
14	preparat jednorodny, bez rozwarstwień, klarowny, ciemnobrązowy, bez oklejenia ścianek	
24A	bez osadu i rozwarstwień, bez propolisu	






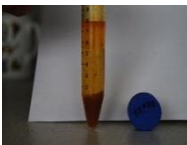






b. Preparaty jednowarstwowe



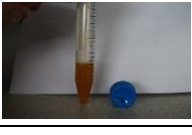
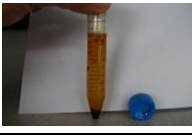








preparat	opis preparatu	zdjęcie
34B	1 warstwa: preparat jednorodny, bez osadu i wytrąceń, bez oblepienia ścianek, płyn mętny, mleczno-miodowy, u góry preparatu delikatny, ciemniejszy tłuszczowy pierścień	
34C	1 warstwa: preparat jednorodny, bez osadu i wytrąceń, bez oblepienia ścianek, płyn mętny, mleczno-miodowy	
45	1 warstwa: płyn mleczno-miodowy, bez wytrąceń i osadu, bez oblepienia ścianek	


45A	1 warstwa: płyn mleczno-miodowy, bez wytrąceń i osadu, na ściance u góry delikatne miodowe zabarwienie	
45C	1 warstwa: płyn mleczno-miodowy, bez osadu i wytrąceń, bez oblepienia ścianek, u góry preparatu na samej ściance delikatne miodowe jej zabarwienia w postaci pierścienia	
46	1 warstwa: bez osadu na dnie ani ściankach, preparat miodowo-mleczny, płyn mętny ale jednorodny	

c. Preparaty dwuwarstwowe

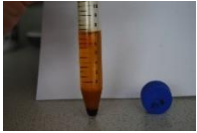

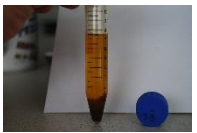




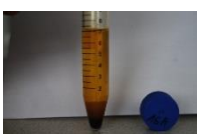
preparat	opis preparatu	zdjęcie
17B2	2 warstwy: na dnie delikatny jasny osad o strukturze piasku, łatwo mieszający się, bez wytrąconego wosku i osadu na ściankach	
17	2 warstwy: delikatne, lekkie rozwarstwienie na dnie o strukturze piasku, jaśniejsze niż płyn, płyn klarowny, ciemnobrązowy, bez wosku na ściankach	
15B	2 warstwy: na samym dnie miodowa zawiesina, płyn klarowny miodowy, bez osadu wosku na ściankach	
15	2 warstwy: na samym dnie miodowa zawiesina, płyn klarowny miodowy, bez osadu wosku na ściankach	
16	2 warstwy: na dnie jasny osad o strukturze piasku, płyn klarowny, brązowy, bez oklejenia ścianek	
16B	2 warstwy: na dnie jasny osad o strukturze piasku, płyn klarowny, brązowy, bez oklejenia ścianek	
21	2 warstwy: na samym dnie nierówny, brązowy osad, niemożliwy do wymieszania, płyn mętny, ścianki oklejone woskiem (dużo kropek)	
24	2 warstwy: na samym dnie równy, jednolity ciemnobrązowy osad, płyn klarowny, bez osadu woskowego na ściance i bez jej wybarwienia	
23A	2 warstwy: na samym dnie nierówny, ciemny, woskowy osad, niemożliwy do wymieszania, liczne kropki wosku na ściankach	
18A	2 warstwy: na dnie czarny, lepki, gęsty osad niemożliwy do wymieszania, na ściankach kropki z wosku, preparat odbarwiony	

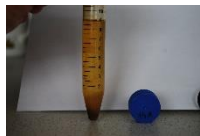





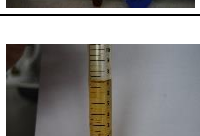
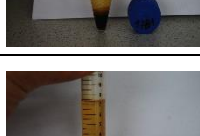
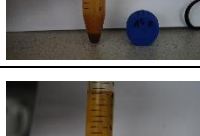



28	2 warstwy: na samym dnie mało woskowego ciemnego osadu, niemożliwego do wymieszania z preparatem, osad ten też okleja ścianki	
14EE	2 warstwy: na samym dnie nierówny jasny, galaretowany osad bardzo łatwo mieszający się z płynem, płyn klarowny, nie barwi ścianek i nie osadza wosku na nich	
25	2 warstwy: na samym dnie nierówny jasny, galaretowany osad bardzo łatwo mieszający się z płynem, płyn klarowny, nie barwi ścianek i nie osadza wosku na nich	
13E	2 warstwy: na samym dnie nierówny jasny, galaretowany osad bardzo łatwo mieszający się z płynem, płyn klarowny, nie barwi ścianek i nie osadza wosku na nich	
26	2 warstwy: na samym dnie nierówny, jasny, delikatny osad, płyn klarowny, bez osadu woskowego na ściankach	
13EEE	2 warstwy: na samym dnie galaretowaty, nierówny miodowy osad, łatwo się miesza, ale pozostawia liczne, pomarańczowe kropki na ściankach oraz pierścień tłuszczowy na górze preparatu (olejek rokitnikowy)	
25B	2 warstwy: na samym dnie jednorodny, miodowy osad, płyn klarowny, bez woskowego osadu na ściankach	
13CC	2 warstwy: na samym dnie brązowy, nierówny osad, trudno mieszający się, duże oblepienie ścianek, od góry pomarańczowy pierścień (olejek rokitnikowy)	
27	2 warstwy: na samym dnie ciemne woskowe pasmo osadu, które okleja też ścianki, preparat odbarwiony	
28	2 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy, woskowy, trudno mieszający się osad, płyn klarowny, miodowo-żółty, oblepienie ścianek na dole probówki ciemnobrązowym woskiem	
30	2 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy, woskowy osad niemieszający się, płyn mętny, fragmenty osadu pływają w toni płynu, ścianki zabarwione miodowo	
31	2 warstwy: na dnie ciemnobrązowe, woskowe oblepienie sięgające 1/2 probówki, płyn mętny, ścianki oblepione drobnymi kropkami ciemnobrązowego, woskowego osadu	



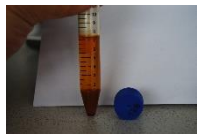






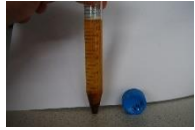

31A	2 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy, woskowy, niemieszający się osad, płyn klarowny ale w toni płynu pływają fragmenty osadu, ścianki oblepione miodowymi kropkami woskowego osadu,	
31AA	2 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy, woskowy osad, płyn klarowny, ścianki rzadko oblepione ciemnobrązowymi woskowymi kropkami	
32	2 warstwy: na samym dnie bardzo cienki pasek brązowego osadu, płyn mętny, ścianki lekko zabarwione i z małą ilością delikatnych kropek brązowego wosku	
32A	2 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy, woskowy, niemieszający się osad, płyn mętny, znaczne oblepienie ścianek ciemnobrązowym woskiem	
33	2 warstwy: na samym dnie niewiele ciemnobrązowego, woskowego niemieszającego się osadu, płyn bardzo mętny, ścianki do 1/2 zabarwione, delikatnie oblepione drobnymi brązowymi kropkami wosku	
33A	2 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy, woskowy, niemieszający się osad, płyn klarowny, lekko odbarwiony, znaczne oblepienie ścianek ciemnobrązowym woskiem	
40	2 warstwy: na samym dnie brązowy, nierówny osad o strukturze piasku, który okleja także ścianki, płyn klarowny ale odbarwiony, u góry preparatu brązowy pierścień osadu	
43	2 warstwy: płyn jasny, klarowny bez osadu na dnie ale w jego toni widoczny jasny pływający galaretkowaty osad, bez oklejenia ścianek (bo bez propolisu)	
44	2 warstwy: płyn gęsty, mętny, miodowo-mleczny, w jego toni u góry pod światło widoczne delikatne, jasne wytrącenie, bez oblepienia ścianek	
44A	2 warstwy: na samym dnie delikatny, jasny, mieszający się osad o strukturze piaseczku, płyn mętny, mleczno-miodowy, bez oblepienia ścianek	
44B	2 warstwy: płyn gęsty, mętny, mleczno-miodowy, w jego toni u góry widoczny pod światło delikatny jasny osad o strukturze piasku, bez oblepienia ścianek	
44C	2 warstwy: płyn gęsty, mętny, miodowo-mleczny, w jego toni u góry pod światło widoczne ciemniejsze wytrącenie, bez oblepienia ścianek	

45B	2 warstwy: płyn mętny, żółty, w jego toni u góry preparatu widoczne zagęszczenie, ciemniejsze niż płyn, bez oblepienia ścianek	
46A	2 warstwy: na samym dnie jasnobrązowy osad o strukturze piasku, łatwo mieszający się z płynem, płyn jasnożółty, lekko mętny, bez osadu wosku na ściankach	

d. Preparaty trójwarstwowe

preparat	opis preparatu	zdjęcie
19	3 warstwy: na samym dnie gęsty, woskowy, ciemny osad, trudno mieszający się, nad nim miodowy, jednorodny osad o strukturze piasku, łatwy do wymieszania, płyn klarowny, miodowy, bez osadu na ściankach	
14B	3 warstwy: na samym dnie gęsty, woskowy, ciemny pierścień, trudno mieszający się, nad nim miodowy, jednorodny osad o strukturze piasku, łatwy do wymieszania, płyn klarowny, miodowy, bez osadu na ściankach	
13	3 warstwy: na samym dnie gęsty, woskowy, ciemny pierścień, trudno mieszający się, nad nim miodowy, jednorodny osad o strukturze piasku, łatwy do wymieszania, płyn klarowny, miodowy, bez osadu na ściankach	
22	3 warstwy: na samym dnie woskowy, brązowy osad, niemożliwy do wymieszania, nad nim cienkie pasmo nierównego mlecznego, na ściance pojedyncze kropki osadu tłuszczowego	
13C	3 warstwy: na samym dnie nierówny, ciemny brązowy osad na stałe, niemożliwy do wymieszania, nad nim cienkie nierówne pasmo osadu mlecznego, na ściankach woskowe kropki	
14C	3 warstwy: na samym dnie gęsty, nierówny, ciemny niemożliwy do wymieszania osad, nad nim cienkie pasmo nierównego, szarego osadu, płyn klarowny, ścianki zabarwione	
15A	3 warstwy: na samym dnie ciemny, gęsty osad nie możliwy do wymieszania, nad nim warstwa mieszającego się osadu o strukturze galaretki, szarego, płyn klarowny, miodowy, ścianki lekko wybarwione	
16A	3 warstwy: na samym dnie gęsty, bardzo ciemny nie mieszający się osad, nad nim pasmo mieszającego się osadu o strukturze piasku, szarego, ścianki delikatnie oklejone woskiem (kropki), płyn klarowny ale odbarwiony (jasnożółty, słomkowy)	

14A	3 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy osad niemożliwy do wymieszania, nad nim szary, mieszający się kłaczkowy osad, płyn klarowny, miodowy, ścianki oklejone woskiem	
24C	3 warstwy: na samym dnie woskowy bardzo ciemny osad, nad nim galaretowaty jaśniejszy osad, płyn klarowny, bez osadu woskowego na ściankach ale ich lekkie wybarwienie	
22A	3 warstwy: na samym dnie woskowy, brązowy osad, niemożliwy do wymieszania, nad nim cienkie pasmo nierównego mlecznego, na ściance bardzo silne oklejenie ciemnym woskiem	
21A	3 warstwy: na samym dnie nierówny, ciemny, lepki woskowy osad, niemożliwy do wymieszania, nad nim cienkie nierówne pasmo osadu mlecznego, dużo brązowego wosku na ściankach	
14D	3 warstwy: na samym dnie gęsty, nierówny, woskowy, brązowy osad niemożliwy do wymieszania, nad nim pasmo nierównego, mlecznego osadu, oblepienie ścianek woskiem	
13D	3 warstwy: na samym dnie gęsty, nierówny, woskowy, brązowy osad niemożliwy do wymieszania osad, nad nim pasmo nierównego mlecznego osadu, oblepienie ścianek woskiem	
17B1	3 warstwy: na samym dnie gęsty, bardzo ciemny nie mieszający się osad, nad nim pasmo mieszającego się osadu o strukturze piasku, szarego, ścianki oklejone woskiem (kropki i zacieki), płyn klarowny ale odbarwiony (bardzo jasny)	
14E	3 warstwy: na samym dnie osad brązowy, nad nim osad jaśniejszy, oba łatwo mieszają się z preparatem, przy górnej warstwie pierścień wosku, ścianki oklejone kropkami wosku	
13EE	3 warstwy: na samym dnie osad brązowy, nad nim osad jaśniejszy, oba łatwo mieszają się z preparatem, przy górnej warstwie pierścień wosku, ścianki oklejone kropkami wosku	
25A	3 warstwy: na samym dnie osad brązowy, nad nim osad jaśniejszy, oba łatwo mieszają się z preparatem, przy górnej warstwie pierścień wosku, ścianki oklejone kropkami wosku	
26A	3 warstwy: na samym dnie piaskowy jasny osad, nad nim pasmo nierównego, brązowego osadu, który osadzony jest też na ściankach (kropki)	
25 C	3 warstwy: na samym dnie woskowy, ciemny pierścień, nad nim brązowy osad, oba trudne do wymieszania, zabarwione ścianki oaz wytrącone kropki i pasma wosku na nich	

19A	3 warstwy: na samym dnie ciemny pierścień, nad nim brązowy osad o konsystencji galaretki, ścianki odbarwione i oklejone woskiem, płyn klarowny, miodowy, na górze preparatu pierścień z pomarańczowego, tłustego osadu (olejek rokitnikowy)	
19B	3 warstwy: na samym dnie ciemny pierścień, nad nim brązowy osad o konsystencji galaretki, ścianki odbarwione i oklejone woskiem, płyn klarowny, miodowy, na górze preparatu pierścień z pomarańczowego, tłustego osadu (olejek rokitnikowy)	
13B	3 warstwy: na samym dnie ciemny pierścień, nad nim galaretowaty, miodowy osad, płyn klarowny, na ściankach pomarańczowy osad z filmu tłuszczowego oraz pomarańczowy pierścień na górze preparatu	
13A	3 warstwy: na samym dnie gęsty, ciemny niemożliwy do wymieszania osad, nad nim osad jaśniejszy, miodowy, płyn klarowny, ścianki oklejone woskiem, na górze preparatu pomarańczowy, tłuszczowy pierścień (olejek rokitnikowy)	
13DD	3 warstwy: na samym dnie jak i górze preparatu, gęsty, b. ciemny, woskowy osad, nad nim nierówny mleczny osad, całe ścianki oblepione woskiem, nic się nie miesza	
20B	3 warstwy: na samym dnie ciemny pierścień, nad nim osad miodowy, galaretowaty, płyn klarowny, bez osadu na ściankach	
20	3 warstwy: na samym dnie ciemny pierścień, nad nim osad miodowy, galaretowaty, płyn klarowny, bez osadu na ściankach	
20A	3 warstwy: na samym dnie ciemny pierścień, nad nim miodowy, piaskowy osad trudny do wymieszania, płyn mętny, pływają w nim oderwane drobne fragmenty osadu (przy powierzchni), lekkie zabarwienie ścianek i wosk na nich (b. mało),	
34	3 warstwy: na samym dnie szaro-brązowy osad o strukturze piasku, nad nim warstwa brązowego, nierównego osadu który okleja także ścianki, płyn mętny	
34A	3 warstwy: na samym dnie brązowy, woskowy osad, nad nim jasny galaretowaty osad unoszący się w toni płynu, płyn mętny, ścianki delikatnie oklejone drobnymi kropkami brązowego woskowego osadu	
35	3 warstwy: na samym dnie cienki, ciemnobrązowy woskowy trudno mieszający się pierścień, na nim brązowy, jednorodny osad o strukturze galaretki, płyn klarowny, delikatne miodowe zabarwienie ścianek	



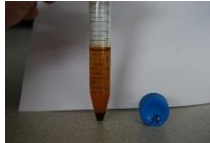
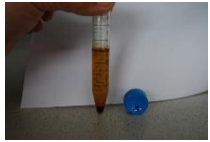









36	3 warstwy: na samym dnie cienki, ciemnobrązowy woskowy trudno mieszający się pierścień, na nim brązowy, nierówny osad o strukturze galaretki, płyn klarowny, delikatne miodowe zabarwienie ścianek	
37	3 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy, nierówny, woskowy, trudno mieszający się osad, który okleja także ścianki, nad nim warstwa jaśniejszego, nierównego, galaretowatego osadu, płyn mętny	
38	3 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy, woskowy niemieszający się pierścień, nad nim warstwa jasnego, galaretowatego osadu, płyn bardzo mętny, mleczny, ścianki oklejone pasmami wosku, na górze preparatu warstwa woskowego, brązowego osadu w postaci pierścienia	
39	3 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy, woskowy, trudno mieszający się osad, nad nim warstwa brązowego osadu oklejającego ścianki, płyn mętny, ścianki oblepione pasmami brązowego wosku, na górze preparatu woskowy, ciemnobrązowy pierścień osadu	
41	3 warstwy: na samym dnie jasnobrązowy, woskowy osad, nad nim warstwa brązowego osadu o strukturze piasku, który okleja ścianki, płyn mętny, o góry preparatu pasmo woskowego osadu	
42	3 warstwy: na samym dnie nierówny, brązowy, woskowy osad, nad nim warstwa jasnoszarego osadu o strukturze piasku, ścianki delikatnie oklejone brązowymi kropkami wosku, płyn klarowny ale odbarwiony	

Tabela 4


Opis przygotowanych wariantów modelowych preparatów na bazie 5% czosnku.

a. Preparaty dwuwarstwowe

preparat	opis preparatu	zdjęcie
47	2 warstwy: na samym dnie jasnobrązowy osad o strukturze galaretki, bez oblepienia ścianek, płyn klarowny, miodowy	
48	2 warstwy: na samym dnie niejednorodny jasnobrązowy osad o strukturze galaretki, który częściowo oblepia też ścianki i unosi się w toni płynu, płyn delikatnie mętny, miodowy	
49	2 warstwy: na samym dnie brązowy osad o strukturze piasku, delikatne oblepienie ścianek na jednym boku, płyn lekko mętny, miodowy	

50	2 warstwy: na samym dnie cienki, ciemnobrązowy pasek woskowego osadu oblepiający też dolne ścianki, płyn mętny, jasno miodowy	
51	2 warstwy: na nie szaro-brązowy niejednorodny osad o strukturze galaretki, który częściowo oblepia też ścianki i pływa w toni płynu, płyn lekko mętny jasno miodowy	
52	2 warstwy: na dnie niejednorodny jasnobrązowy osad o strukturze galaretki, który unosi się też w znacznej ilości w toni płynu (duże farfocle), płyn lekko mętny, jasno miodowy	
54	2 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy woskowy osad, który oblepia też ścianki dolne, płyn mętny, miodowy	

b. Preparaty trójwarstwowe

preparat	opis preparatu	zdjęcie
53	3 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy woskowy osad, nad nim niejednorodny jasnobrązowy osad o strukturze galaretki, który unosi się też w toni i oblepia ścianki, u góry preparatu pomarańczowy, tłuszczowy pierścień, płyn lekko mętny, jasno miodowy	

W ramach badań podjęto próby połączenia poszczególnych składników lub ewentualnie wytrącenie zbędnych komponentów zanieczyszczających roztwory a pochodzących głównie z wytrącania się czosnku w obecności wybranych składników mieszanin (tabela 5). W tym celu poddano mieszaniny procesowi wirowania o różnym czasie jego trwania i zmiennej ilości obrotów na minutę. Powtórnie dokonano szczegółowego opisu uzyskanych mieszanin oraz jak wcześniej poziomu osadzania się poszczególnych warstw. Zwrócono uwagę na możliwość sączkowania takich mieszanin w celu oddzielenia od powstałych w wyniku wirowania trwałych nieusuwalnych osadów. Metoda taka pozwoliła na znacznie oczyszczenie roztworów.

Tabela 5

Wyniki wirowania (zmienny czas oraz liczba obrotów) wybranych preparatów

Próba	Uwagi po wirowaniu
Wirowanie 5 minut	
16B-1	wirowanie 5 min, 2000 obrotów/min: 3 warstwy: na samym dnie bardzo ciemny woskowy osad, nad nim osad jasny o strukturze piasku, nad nim warstwa miodowobrązowego osadu o strukturze galaretki, z osadem wosku na ściankach, płyn miodowy, lekko mętny;
26A-1	wirowanie 5 min, 2000 obrotów/min: 3 warstwy: na samym dnie ciemnobrązowy osad osadzający się także na ściankach, nad nim warstwa jasnego osadu, płyn lekko mętny

25B-1	wirowanie 5 min, 2000 obrotów/min: 3 warstwy: na samym dnie jasnoszary osad o strukturze piasku, osadzający się także na ścianie, nad nim cienka warstwa miodowobrazowego osadu o strukturze galaretki, płyn lekko mętny
Wirowanie 10 minut	
16B-2	wirowanie 10 min, 3000 obrotów/min: gruba warstwa ciemnobrazowego osadu na samym dnie, nad nią osad miodowobrazowy o strukturze galaretki, płyn lekko mętny, słabe oblepienie ścianek woskiem
20B-2	wirowanie 10 min, 3000 obrotów/min: 4 warstwy: na samym dnie ciemnobrazowy osad, nad nim jasnoszary osad o strukturze piasku, nad nim cienka warstwa miodowobrazowego osadu o strukturze galaretki, płyn lekko mętny, jasno miodowy
24-2	wirowanie 10 min, 3000 obrotów/min: 4 warstwy: na samym dnie ciemnobrazowy osad, nad nim warstwa jasnoszarego osadu o strukturze piasku, nad nim warstwa miodowego osadu o strukturze galaretki, płyn leciutko mętny, ciemno miodowy
26A-2	wirowanie 10 min, 3000 obrotów/min: 3 warstwy: na samym dnie ciemnobrazowy osad, nad nim jasnobrazowy osad o strukturze piasku osadzający też na ścianie, płyn lekko mętny żółty, duże oblepienie ścianek woskiem
25B-2	wirowanie 10 min, 3000 obrotów/min: 4 warstwy: na samym dnie ciemnobrazowy osad, nad nim jasnoszary osad o strukturze piasku, nad nim cienka warstwa miodowobrazowego osadu o strukturze galaretki, płyn lekko mętny, ścianki oblepione woskiem
46-2	wirowanie 10 min, 3000 obrotów/min: 3 warstwy: na samym dnie ciemnobrazowy osad, nad nim cienka warstwa jasnoszarego osadu o strukturze piasku, płyn mętny, żółty, z delikatnym osadem na ścianie
46A-2	wirowanie 10 min, 3000 obrotów/min: 3 warstwy: na samym dnie ciemnobrazowy osad, nad nim bardzo cienka warstwa jasnobrazowego osadu o strukturze piasku, płyn mętny, mleczno-żółtawy z trwałym osadem na ścianie
47-2	wirowanie 10 min, 3000 obrotów/min: 3 warstwy: na samym dnie czarny woskowy osad, nad nim osad jasnoszary o strukturze piasku, płyn klarowny, miodowy, ścianki lekko oblepione miodowym woskiem
48-2	wirowanie 10 min, 3000 obrotów/min: 3 warstwy: na samym dnie czarny woskowy osad, nad nim jasnoszary osad o strukturze piasku, płyn klarowny, miodowy, ścianka z jednej strony bardzo delikatnie oblepiona
52-2	wirowania 10 min, 3000 obrotów/min: 3 warstwy: na samym dnie ciemnobrazowy osad, nad nim niejednolity jasnoszary osad o strukturze piasku, który unosi się też w toni płynu, płyn lekko mętny, lekko miodowy, u góry preparatu pomarańczowy, tłuszczowy pierścień
54-2	wirowania 10 min, 3000 obrotów/min: 3 warstwy: na samym dnie czarny woskowy osad, nad nim na ściankach jasnoszary osad o strukturze galaretki, ścianki oblepione ciemnobrazowymi kropkami wosku, płyn lekko mętny, jasno miodowy
Wirowanie 20 minut	
16B-2/2	wirowanie 20 min, 3000 obrotów/min: 1 warstwa: płyn żółto miodowy, lekko mętny przy samym dnie, bez osadów na ścianie,

20B-2/2	wirowanie 20 min, 3000 obrotów/min: 2 warstwy: na samym dnie lekkie, jasne, białawe zagęszczenie płynu, płyn lekko mętny, miodowy, delikatne miodowe wybarwienie ścianek
24 2-2	wirowanie 20 min, 3000 obrotów/min: 1 warstwa: na samym dnie rzadkie, pojedyncze, delikatne kropeczki jasnego osadu, płyn klarowny miodowy
26A-2/2	wirowanie 20 min, 3000 obrotów/min: 2 warstwy: na samym dnie biały osad, który też lekko osadza się na ściankach, płyn klarowny, jasnożółty
25B-2/2	wirowanie 20 min, 3000 obrotów/min: 2 warstwy, na samym dnie bardzo niewiele ciemnobrązowego osadu, płyn lekko mętny, ciemnożółty, na ściankach delikatny galaretowaty osad w kolorze płynu
46-2/2	wirowanie 20 min, 3000 obrotów/min: 2 warstwy: bez osadu na dnie, płyn mętny, żółty, z mlecznym osadem na ściance
46A-2/2	wirowanie 20 min, 3000 obrotów/min: 2 warstwy: bez osadu na dnie, płyn mętny, żółty, z mlecznym osadem na ściance

W obrębie etapu I dokonano także badań mających określić na ile proponowane mieszaniny ziół z udziałem czosnku i propolisu mogą hamować rozwój patogenów bezpośrednio związanych z powstawaniem zapalenia wymion (tabela 6-7). W tym celu w laboratorium mikrobiologicznym dokonano pomiarów aktywności badanych preparatów ziołowych dla *Staphylococcus aureus* metodą studzienkową na agarze Muellera-Hintona, do którego wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *S. aureus* ATCC 29239 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w agarze studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35° przez 24 godziny. Dokonano pomiarów aktywności badanych preparatów ziołowych dla *Staphylococcus aureus* metodą studzienkową na agarze Muellera-Hintona, do którego wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *S. aureus* ATCC 29239 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w agarze studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35°C przez 24 godziny. Dla gronkowców koagulozoujemnych (CNS) dokonano pomiarów aktywności analizowanych preparatów ziołowych metodą studzienkową na agarze Muellera-Hintona, do którego wsiano 1 ml szczepów terenowych CNS o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w agarze studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35°C przez 24 godziny. Dla bakterii *Escherichia coli* pomiar aktywności preparatów ziołowych wykonano metodą studzienkową na agarze Muellera-Hintona, do której wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *E. coli* - kolekcja ATCC 29922 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w podłożu studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35°C przez 24 godziny. Dla paciorkowców kałowych *Enterococcus faecalis* pomiar aktywności preparatów ziołowych wykonano metodą studzienkową na podłożu z 5 % krwią baranią, do którego wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *Enterococcus faecalis* ATCC51299 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w podłożu studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35 °C przez 24 godziny. Pomiarów aktywności preparatów wobec *Streptococcus uberis* dokonano metodą studzienkową na agarze Muellera-Hintona, do którego wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *Str. uberis* ATCC 700407 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w podłożu studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35 °C przez 24 godziny. Dla grzybów *Candida krusei* pomiarów skuteczności preparatów ziołowych dokonano metodą studzienkową na podłożu Sabouraud'a, do którego wsiano 1 ml wzorcowego szczepu *C. krusei* DBVPG 7235 o gęstości 0,5 w skali MC Farlanda. Do wyciętych w podłożu studzienek wiano 100 mikrolitrów badanego preparatu, a następnie inkubowano w temperaturze 35°C przez 24 do 48 godzin.

W tabeli 6 przedstawiono wyniki badań skuteczności antymikrobiologicznych preparatów ziołowych przygotowanych na bazie 10% soku z czosnku. Spośród przygotowanych i opisanych powyżej preparatów, na podstawie wyników badań organoleptycznych wybrano 30 preparatów w których oznaczano skuteczność hamowania wzrostu kolonii patogenów środowiskowych najczęściej wywołujących stany zapalne wymienia u bydła mlecznego. Za dolną skuteczną granicę działania antyseptycznego preparatu, tożsamą ze średnicą strefy zahamowania wzrostu, przyjęto wymiar - 7 mm. Im wyższa wartość dla stref tym lepsze działanie hamujące preparatu w odniesieniu do namnażania danego rodzaju patogenu. Wybór preparatów do dalszych doświadczeń terenowych podjęty został na podstawie działania antyseptycznego wobec najczęstszych drobnoustrojów patogennych dla wymienia oraz fizycznych właściwości preparatu takich jak stopień jego rozwarstwienia, homogenności płynu, wielkość i zakres oklejenia ścianek naczyń laboratoryjnych, wybarwienie preparatu, stopień oklejenia, przywierania i trwałości preparatu na wymieniu testowym (rękawica), podrażnienie skóry.

Tabela 6

Badania preparatów o 10% udziale czosnku pod kątem hamowania rozwoju patogenów.

Próba	strefa dla CNS /mm/	strefa dla <i>Staphylococcus aureus</i> (0,5) na 1 ml /mm/	strefa dla <i>Candida krusei</i> /mm/	strefa dla <i>E.coli</i> /mm/	strefa dla <i>Str.</i> <i>Uberis</i> /mm//	strefa dla <i>Enterococcus</i> /mm/
15	14	15	17	0	10	12
16	15	15	14	0	0	10
24	14	15	14	0	11	10
25	14	16	13	0	0	9
26	13	16	12	0	10	9
31	14	15	13	0	9	10
32	0	13	12	0	9	0
33	13	13	11	0	0	10
34	13	13	11	0	0	10
35	17	16	11	0	0	0
36	17	16	0	9	0	0
42	11	15	0	0	11	9
43	0	9	0	0	0	9
45	15	16	9	0	12	0
13B	14	16	17	0	0	10
13EE	13	14	13	0	9	10
13EEE	12	15	12	0	0	0
14E	13	15	12	0	0	11
14EE	13	14	15	0	0	12
15B	15	15	13	0	0	10
16B	15	15	13	0	10	10
20B	14	15	14	0	11	10
24A	0	10	0	0	0	9
25B	14	15	13	0	9	9
26A	13	15	13	0	10	10
34B	16	16	11	0	11	0
34C	15	16	0	0	11	0
44A	17	15	9	0	14	9
44B	15	15	0	0	13	0
45B	16	16	9	0	11	0
średnia	13,28	14,67	10,03	0,30	6,03	7,17
sd	3,95	1,67	5,44	1,64	5,47	4,57

Dla gronkowców koagulozoujemnych (CNS) średnie ograniczenie strefy wzrostu dla wszystkich analizowanych preparatów wynosiło 13,28 mm przy odchyleniu standardowym równym 3,95. Zakres stref z zahamowanym wzrostem kolonii mieścił się w granicach od 11 (jeden preparat – próba 42) do maksymalnie 17 mm (trzy preparaty – próby 35, 36 i 44A). Trzy spośród przygotowanych preparatów (próba 32, 43 i 24 A) nie wykazywały jakiegokolwiek działania hamującego dla wzrostu tego typu gronkowców. W przypadku gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) średnia strefa ograniczenia wzrostu dla wszystkich preparatów wynosiła 14,67 mm, przy odchyleniu standardowym wynoszącym 1,67. Zakres ograniczenia stref wzrostu dla tej bakterii mieścił się w przedziale od 9 mm (jeden preparat – próba 43) do maksymalnie 16 mm (9 preparatów – próby 25, 26, 35, 36, 45, 13 B, 34B, 34C, 45B). Czternaście preparatów charakteryzowało się ograniczeniem strefy wzrostu wynoszącym 15 mm. Dla grzybów z gatunku *Candida krusei*, przeciętna strefa ograniczonego wzrostu kolonii dla wszystkich testowanych preparatów wynosiła 10,03 mm, przy odchyleniu standardowym wynoszącym 5,44. Zahamowanie stref wzrostu dla *Candida krusei* mieściło się w granicach od 9 mm (trzy preparaty – próby 45, 44A, 45B) do 17 mm (dwa preparaty – próby 15 i 13B). Sześć spośród badanych preparatów (próby 36, 42, 43, 24A, 34C, 44B) nie wykazało żadnego działania ograniczającego wzrost tego gatunku grzyba patogennego. Spośród badanych 30-stu preparatów tylko jeden (próba 36) wykazywał działanie hamujące w odniesieniu do bakterii kałowych *Escherichia coli*. W przypadku bakterii *Streptococcus uberis* działanie hamujące wzrost jej kolonii wykazało 17 z analizowanych preparatów. Zakres ograniczenia strefy wzrostu tego paciorkowca wynosił od 9 mm (cztery preparaty – próby 31,32, 13EE, 25B) do 14 mm (jeden preparat – próba 44A). Dla wszystkich preparatów średnia strefa hamowania wzrostu *Str. uberis* wyniosła 6,03 mm, przy odchyleniu standardowym na poziomie 5,47. Trzydzieści spośród testowanych preparatów nie wykazało żadnego działania ograniczającego wzrost tego gatunku bakterii. W odniesieniu do bakterii z rodzaju *Enterococcus* spp. (tzw. enterokoków) średnia strefa zahamowania ich wzrostu łącznie dla wszystkich preparatów wyniosła 7,17 mm, z odchyleniem standardowym liczącym 4,57. Zakres ograniczenia stref wzrostu kolonii enterokoków mieścił się w granicach od 9 (siedem preparatów – próby 25, 26, 42, 43, 24A, 25B, 44A) do maksymalnie 12 mm (dla dwóch preparatów – próby 15 i 14 EE). Dziewięć spośród wszystkich badanych preparatów nie wykazywało działania ograniczającego wzrost kolonii bakterii z rodzaju *Enterococcus* spp.

Tabela 7

Badania preparatów o 5% udziale czosnku pod kątem hamowania rozwoju patogenów.

próba	strefa dla CNS /mm/	strefa dla <i>Staphylococcus aureus</i> (0,5) na 1 ml /mm/	strefa dla <i>Candida krusei</i> /mm/	strefa dla <i>E.coli</i> /mm/	strefa dla <i>Str. uberis</i> /mm/	strefa dla <i>Enterococcus</i> sp. /mm/
47	15	16	11	0	13	10
48	14	16	10	0	13	11
49	15	15	9	0	12	10
50	11	16	11	0	12	10
51	14	16	11	0	12	12
53	15	15	11	0	12	11
54	14	18	10	0	12	12
średnia	14,00	16,00	10,43	0,00	12,29	10,86
sd	1,41	1,00	0,79	0,00	0,49	0,90

CNS – gronkowce koagulozo-ujemne

Dla preparatów o udziale rozworu czosnku na poziomie 5% stwierdzono średnią wielkość strefy dla CNS na poziomie 14 mm przy rozpiętości od 11 do 15 mm (tabela 7). Strefa dla *Staphylococcus aureus* kształtowała się na średnim poziomie 16 mm przy rozkładzie od 15 do 18 mm dla próby 54. W badaniach nad grzybem *Candida krusei* testowane preparaty hamowały rozwój w strefie o wielkości 10 mm, przy rozkładzie od 9-11 mm. Nie stwierdzono działań hamujących rozwój *E.coli* w żadnym z badanych preparatów. Zaobserwowano jednak hamowanie *Str. Uberis* na obszarze 12 mm i *Enterococcus sp.* na obszarze 10 mm.

Z pośród typowanych w etapie badań laboratoryjnych preparatów w oparciu o powyższe analizy wytypowano do badań terenowych w jednym z zakładów Instytutu Zootechniki dwa preparaty o numerze 25B oraz 26A. Preparaty te zostały zgodnie z metodyką zastosowane w Zakładzie Doświadczalnym IZ Chorzelów na 2 wybranych grupach krów.

2.7. Badania doświadczalne - Chorzelów

W ZZD Chorzelów na dwóch grupach doświadczalnych liczących po 10 sztuk przeprowadzono badania z zastosowaniem preparatu o numerze 25b i 26a. Wyniki zaprezentowano w poniższych tabelach. Tabela 8 przedstawia wyniki badań mleka pod kątem poziomu komórek somatycznych oraz elementów układu odpornościowego wymienia u krów z gospodarstwa w ZZD w Chorzelowie, przed oraz w okresie pierwszej doby od rozpoczęcia stosowania preparatu do dippingu o numerze 26A. Na poziomie analizowanej grupy zwierząt, przed rozpoczęciem doświadczenia, średnia liczba komórek somatycznych wynosiła 339 000,00 przy odchyleniu standardowym 359 381,07. W grupie krów objętej badaniami poziom komórek somatycznych, zarówno przed jak i w 24 h po wprowadzeniu dippingu, charakteryzował się znacznym zróżnicowaniem i wynosił od najniższych wartości – 31 tys. (przed) i 22 tys. (po) do 1 mln 070 tys. (przed) i 16 mln 364 tys. (po). Przed rozpoczęciem badań tylko u 3. krów stwierdzono lks poniżej wartości 100 tys. komórek, u 3 sztuk poziom ten mieścił się w granicach 100-250 tys., u kolejnych 3. krów wynosił powyżej 400 tys. Liczba komórek somatycznych po 24 godzinach od wprowadzenia preparatu uległa obniżeniu u 5. sztuk, u pozostałych 4.szt uległa nieznacznemu wzrostowi, zaś u jednej sztuki wzrost ten był znaczny (z 1 070 000 do 16 364 000). Zarówno przed jak i dobę po zastosowanym dippingu, średnia procentowa wartość krów o przekroczonych normach jakościowych mleka wynosiła 22,2 %. Przeciętna liczba limfocytów w badanej grupie przed rozpoczęciem dippingu wynosiła 53387,78, przy wartości odchylenia standardowego - 59393,73. Podobnie jak dla lks, wartości dla tej frakcji ciał odpornościowych były bardzo zróżnicowane w obrębie stada i wynosiły od 4 960 do 181 900. Tylko 2.krowy charakteryzowały się liczbą limfocytów poniżej 10 tys., u 2. sztuk stwierdzono ponad 100 tys. tego typu komórek w badanym mleku. Zastosowanie preparatu wpłynęło na obniżenie poziomu limfocytów u 5.badanych krów, nieznaczny ich wzrost u jednej sztuki oraz znaczne zwiększenie u 3. krów. Po 24 godzinach od wprowadzenia preparatu średnia wartość limfocytów dla grupy wynosiła 63 493,33 przy odchyleniu standardowym na poziomie 91 812,54. W odniesieniu do granulocytów, w badanej grupie zwierząt przed rozpoczęciem stosowania preparatu, tylko u dwóch krów ich poziom wynosił poniżej 1 000 (625 i 635), u jednej krowy wynosił 1 615, u trzech sztuk mieścił się w przedziale 33 300-43 920, zaś u trzech zwierząt wynosił powyżej 100 000. Średnia zawartość granulocytów przed rozpoczęciem dippingu wynosiła 77 603,89 przy wartości odchylenia standardowego 94 532,99. Poziom tej frakcji ciał odpornościowych przed badaniami mieścił się w przedziale od 625 do 246 100. Podobnie jak w przypadku limfocytów, po 24 godzinach od wprowadzenia preparatu u 5. krów stwierdzono obniżenie ilości granulocytów w mleku, w tym u trzech sztuk znaczne (z poziomu 115 360 do 44 820, z

43 920 do 1 865 oraz z 33 300 do 475), u trzech sztuk nieznaczny wzrost tego rodzaju komórek, zaś u jednej – znaczne zwiększenie ich poziomu (z 246 100 do 3 763 720). Wartość granulocytów po wprowadzeniu preparatu mieściła się w zakresie od 435 do 3 763 720, przy średniej wartości dla grupy na poziomie 452 853,89 i odchyleniu standardowym – 1 172 424,25. Pod względem liczby makrofagów przed rozpoczęciem badań u 4 sztuk stwierdzono ich poziom poniżej 100 tys. (od 25 600 do 86 950), zaś u pozostałych 5 zwierząt ich poziom wynosił powyżej 100 tys. (od 103 400 do 248 320). Średnia zawartość makrofagów w mleku badanych krów przed badaniami wynosiła 110 332,22, zaś po – 403 956,67. Podobnie jak w przypadku zarówno limfocytów jak i granulocytów – po wprowadzeniu dippingu obniżenie liczny makrofagów stwierdzono u 5 sztuk, ich zwiększenie – u 4 zwierząt. Poziom komórek nabłonkowych przed rozpoczęciem badań mieścił się w przedziale od 615 do 449 400, przy średniej wartości 97 676,11. Po wprowadzeniu preparatu zaobserwowano ich obniżenie u 5 sztuk, w tym u 3 krów znaczne. Przeciętna zawartość komórek nabłonkowych wynosiła po rozpoczęciu dippingu 796 817,22, mieszcząc się w granicach od 445 do 6 872 880. Zmiany w liczbie wszystkich komórek odpornościowych odpowiadały zmianom w poziomie komórek somatycznych.

W tabeli 9 przedstawiono wyniki badań mleka pod względem zawartości komórek somatycznych oraz elementów układu odpornościowego wymienia u krów z gospodarstwa w ZDD w Chorzelowie, przed oraz w okresie pierwszej doby od rozpoczęcia stosowania preparatu do dippingu o numerze 25B. Lks przed dippingiem wynosiła od 27 tys do 1 mln 608 tys, przy średniej dla badanej grupy 259 363,64. Stwierdzono, że 5 szt. charakteryzowało się poziomem komórek somatycznych poniżej 100 tys., 4 szt. w przedziale od 100 do 200 tys, jedna nieco powyżej górnej rekomendowanej wartości 400 tys. oraz jedna, u której lks wynosiła znacznie ponad 1 mln. Po wprowadzeniu preparatu, lks mieściła się w przedziale od 7 tys. do 1 mln 618, przy średniej na poziomie 360 181,82. Nastąpiło więc zwiększenie średniej liczby komórek somatycznych w obrębie grupy, które wynikało jednak ze znacznego wzrostu ich poziomu tylko u dwóch sztuk. U większości zwierząt w grupie – aż u ośmiu krów stwierdzono obniżenie poziomu lks, w tym u czterech znaczne (z 218 do 27 tys., z 46 do 7 tys., z 174 do 14 tys., z 409 do 175 tys.). Poziom komórek somatycznych w mleku trzech zwierząt uległ wzrostowi, w tym u dwóch sztuk charakteryzował się bardzo wysokimi wartościami tj. z 29 tys. do 1 mln 618 tys. oraz z 117 do 649 tys. Taką samą tendencję zaobserwowano w odniesieniu do limfocytów i granulocytów – ich wzrost po 24 godzinach od wprowadzenia preparatu z wartości 41995,45 do 59670,91 (limfocyty) oraz z 55 036,82 do 81 915,91 (granulocyty) wynikał ze znacznego zwiększenia poziomu tych komórek odpornościowych u dwóch sztuk w grupie. U ośmiu sztuk stwierdzono obniżenie poziomu, zarówno limfocytów jak i granulocytów po 24 godzinach od rozpoczęcia stosowania dippingu. Taka sama sytuacja dotyczyła komórek żernych (makrofagów) jak i nabłonkowych. Przed badaniami ich liczba wynosiła ogólnie dla grupy 79 450,91 (makrofagi) i 82 880,45 (nabłonki), natomiast po rozpoczęciu doświadczenia z preparatem nastąpił ich wzrost do 86 116,36 (makrofagi) i 132 478,73 (nabłonki), który wynikał ze znacznego zwiększenia poziomu tych komórek u dwóch sztuk w badanej grupie. U ośmiu sztuk w grupie liczba omawianych komórek odpornościowych uległa obniżeniu. Wynik 27 % krów o przekroczonej normie jakościowej mleka po 24 godzinach od wprowadzenia preparatu wynikał właśnie ze zmian, które pojawiły się u omawianych dwóch sztuk.

Wyniki badań mleka po 10 dniach testowania preparatu do dippingu o numerze 26A w gospodarstwie w ZDD w Chorzelowie zaprezentowano w tabeli 10. Po 10 dniach stosowania ziołowego preparatu do poudojowej kąpieli strzyków odsetek krów z przekroczoną normą jakości mleka spadł do 11 % w grupie doświadczalnej. Liczba komórek somatycznych w 10.ym dniu dippingu obniżyła się ze średniej na poziomie 339 000,00 do przeciętnej wartości 138 777,78 dla grupy. Przed rozpoczęciem doświadczenia w grupie testowej krów znajdowały się 3 sztuki z przekroczoną górną zalecaną granicą lks 400 tys. Po 10 dniach stosowania dippingu przekroczenie

to stwierdzono już tylko u jednego zwierzęcia, u którego wcześniej poziom ten był prawidłowy. U zwierząt, które przed dippingiem charakteryzowały się znacznie podwyższoną liczbą komórek somatycznych nastąpiło wyraźne ich obniżenie po wprowadzeniu preparatu (np. z wartości 412 do 90 tys., z 244 do 56 tys., z 776 do 28 tys., a nawet z 1 mln 070 tys. do 46 tys.). Spadek lks stwierdzono u siedmiu krów w grupie. Taką samą tendencję zaobserwowano w odniesieniu do liczby wszystkich komórek odpornościowych – limfocytów, granulocytów, makrofagów oraz komórek nabłonkowych. Po 10 dniach od wprowadzenia preparatu do dippingu, u siedmiu krów poziom wymienionych ciał układu immunologicznego uległ znacznemu obniżeniu. Dla limfocytów był to spadek ze średniej wartości 53 387,78 do poziomu 21 145,56, dla granulocytów z 77 603,89 do 27 549,44, dla komórek żernych z 110 332,22 do 64 828,89 oraz dla nabłonków z 97 676,11 do 25 198,33. Największe obniżenie liczby omawianych elementów odpornościowych stwierdzono dla granulocytów oraz komórek nabłonkowych.

W tabeli 11 zaprezentowano liczbę komórek somatycznych wraz z ich podziałem w mleku krów z gospodarstwa w Chorzelowie, przed i po 10 dniach stosowania preparatu do dippingu o numerze 25B. W grupie 10 krów przed wprowadzeniem preparatu znajdowały się 2 sztuki o przekroczonej normie dla komórek somatycznych, w tym jedna z nieznacznie przekroczonym ich poziomem (lks = 409 tys.) oraz jedna, u której ich liczba była 3.krotnie wyższa niż dopuszczalna (lks = 1 mln 608 tys.). U ośmiu sztuk poziom komórek somatycznych mieścił się w przedziale od 27 do 218 tys. Po 10 dniach stosowania preparatu liczba komórek somatycznych uległa obniżeniu u siedmiu krów, w tym u jednej z poziomu 1 mln 608 tys. do 440 tys. U trzech zwierząt zaobserwowano wzrost liczby ks, w tym u jednej sztuki z 218 tys. do 2 mln 345 tys., u której wynik ten zadecydował o zawyżeniu średniej lks dla całej grupy osiągając wartość 323 600,00. Z uwagi na tendencję spadkową poziomu komórek somatycznych na skutek wprowadzenia preparatu ziołowego do poudojowej kąpieli strzyków u większości krów w grupie doświadczalnej, wynik ten należy traktować incydentalnie i indywidualnie. U jednej sztuki, pomimo wzrostu liczby ks, ich poziom znajdował się nadal w zalecanej normie (177 tys.). Pomimo wyższych wartości dla wszystkich typów komórek somatycznych po 10 dniach od wprowadzenia preparatu, wynikających z bardzo wysokich wyników u jednej sztuki, procentowy udział krów z przekroczoną normą jakościową mleka w grupie doświadczalnej wynosił 10%, podobnie jak przed rozpoczęciem badań. W przypadku wszystkich rodzajów komórek odpornościowych stwierdzono tę samą zależność jak dla komórek somatycznych. Po 10 dniach stosowania dippingu u 7. krów w grupie ich liczba uległa obniżeniu, tym u trzech sztuk był to spadek znaczny, wynoszący od 3.5 do nawet 700-setnej krotności wyników wyjściowych. Taka sytuacja dotyczyła przede wszystkim limfocytów i komórek nabłonkowych, czego przykładem jest krowa nr 6603, u której limfocyty obniżyły się z poziomu 61 350 do 1 120, zaś nabłonki z wartości 102 250 do 145. U trzech sztuk w grupie doświadczalnej po 10 dniach od wprowadzenia dippingu nastąpiło zwiększenie liczby wszystkich typów komórek somatycznych, u jednego zwierzęcia wzrost ten był znaczny i pokrywał się ze zwiększonym poziomem lks.

Zawartość komórek somatycznych z rozróżnieniem ich typów w mleku krów przed i po 23 dniach stosowania preparatu do dippingu poudojowego strzyków u numerze 26A w gospodarstwie należącym do ZDD w Chorzelowie, przedstawiono w tabeli 12. Średnia liczba komórek somatycznych w mleku krów przed rozpoczęciem doświadczenia wynosiła 339 tys., w grupie znajdowały się 3 sztuki o przekroczonej dopuszczalnej normie dla komórek somatycznych (400 tys.), w tym u jednej poziom ten był przekroczony nieznacznie (412 tys.), u jednej prawie dwukrotnie (776 tys.), a u jednej sztuki stwierdzono bardzo wysokie, 3.krotne przekroczenie lks (1 mln 070 tys.). U pozostałych sztuk, tj. u 6 krów poziom komórek somatycznych mieścił się w zakresie od 31 do 244 tys. Po 23 dniach stosowania preparatu nastąpiło zwiększenie liczby komórek somatycznych u 6 sztuk w grupie, z czego u czterech zwierząt ich poziom nie przekroczył dopuszczalnej górnej granicy normy, czyli 400 tys. Przekroczenie to stwierdzono u dwóch krów i było to 559 tys. (przed dippingiem – 412 tys.) oraz 675 tys. (przed dippingiem

– 185 tys.). Trzy sztuki zareagowały pozytywnie na zastosowaną ziołową kąpiel strzyków, czego efektem był spadek poziomu lks, w tym u dwóch zwierząt spadek ten był znaczny – z poziomu wskazującego na stan chorobowy w obrębie wymienia (z 1 mln 070 do 507 tys. oraz z 776 do 480 tys.). Średnia liczba tego typu komórek dla grupy wynosiła 363 088,89, przy odchyleniu standardowym 338 827,72. Reakcja organizmu krów na zastosowany preparat była bardzo zmienna i indywidualna, wynikała ze stymulacji układu odpornościowego wspieranego składnikami aktywnymi preparatu na patogeny środowiskowe wywołujące stany zapalne wymienia. W odniesieniu do limfocytów tendencja ta była taka sama jak w przypadku liczby komórek somatycznych. Średnia dla grupy przed dippingiem wynosiła 53 387,78, po 23 dniach badań wzrosła do 63 324,44. Zwiększenie liczby limfocytów stwierdzono u 6.ciu sztuk, w tym u trzech krów był to znaczny wzrost (z 5 120 do 14 880, z 4 960 do 21 600 oraz z 27 750 do 100 550). W mleku trzech krów liczba tych ciał odpornościowych uległa zmniejszeniu, w tym u jednej ponad dwukrotnie. Pod względem liczby granulocytów średnia dla grupy po okresie testowania dippingu wynosiła 86 558,33, w stosunku do wartości sprzed rozpoczęcia badań wzrosła więc o 8 954,44. Również w przypadku tego rodzaju komórek, w grupie doświadczalnej po 23 dniach stosowania preparatu ich wzrost stwierdzono u sześciu sztuk, w tym u dwóch samic był to wzrost znaczny (2-4.krotny), a u jednej przekraczający 40x wartość wyjściową. Trzy sztuki charakteryzowały się obniżeniem poziomu granulocytów w mleku. Przeciętna liczba makrofagów przed rozpoczęciem doświadczenia wynosiła dla grupy 110 332,22, natomiast po 23 dniach stosowania kąpeli strzyków – 127 057,78, nastąpił więc wzrost, który wynikał ze zwiększenia ich ilości u sześciu krów – tych samych zwierząt, dla których stwierdzono zwiększenie lks, limfocytów oraz granulocytów. Zwiększenie poziomu komórek żernych nie było jednak aż tak znaczne jak w przypadku limfocytów i granulocytów. U trzech sztuk w badanym stadzie nastąpił spadek liczby makrofagów w analizowanym mleku. Nabłonki były jedynymi komórkami odpornościowymi, których średnia liczba po okresie doświadczalnym uległa obniżeniu, z 97 676,11 do 86 148,33. Spadek ten dotyczył trzech sztuk w stadzie, przy jednoczesnym wzroście ich poziomu u sześciu krów, u których nie był on jednak aż tak znaczny jak w przypadku pozostałych rodzajów komórek somatycznych. Po okresie doświadczalnym procentowa liczba krów, u których stwierdzono przekroczenie norm jakościowych dla mleka wzrosła o 11 %, jednak przy nie przekroczonej nadal średniej ilości lks dla mleka zdrowego w badanej grupie. Tym samym w skali grupy preparat w większości utrzymał mleko w parametrach normy przy wzroście krów o wyższym lks o jedna sztukę.

W tabeli 13 przedstawiono wyniki badań cytologicznych mleka przed i po 23 dniach stosowania ziołowego preparatu do dippingu strzyków o numerze 25B w oborze doświadczalnej ZDD w Chorzelowie. Przed rozpoczęciem doświadczenia liczba komórek somatycznych wynosiła 267 900,00 przy odchyleniu standardowym 485794,76. W grupie 10 krów wytypowanych do badań 10% zwierząt charakteryzowało się przekroczoną normą jakościową dla mleka, w tym 2 sztuki poziomem komórek somatycznych powyżej zalecanej normy 400 tys., tj. jedno zwierzę – 409 tys., drugie 1 mln 608 tys. Liczba komórek somatycznych u pozostałych krów znajdowała się na poziomie od 27 do 218 tys. Po okresie 23 dni doświadczenia średnia lks dla grupy wynosiła 431 300,00, a wzrost ten wynikał ze znacznego wzrostu liczby tych komórek tylko u jednej sztuki ponad dopuszczalną normę. Jednak na uwagę zasługuje fakt spadku komórek somatycznych u dwóch sztuk, które przed rozpoczęciem badań charakteryzował ich bardzo wysoki poziom – nastąpił spadek z 409 do 49 tys. oraz z 1 mln 608 tys. do 471 tys. U czterech krów nastąpił spadek poziomu lks, u pozostałych 6 wzrost, ale tylko u jednej sztuki było to przekroczenie zalecanej górnej granicy. Średnia liczba limfocytów w mleku krów przed badaniami wynosiła 435 85,00, po 23 dniach prowadzenia badań – 679 96,00. Wzrost ten spowodowany był znacznym zwiększeniem tego typu ciał odpornościowych u jednej sztuki. U 4. krów stwierdzono spadek poziomu limfocytów, u sześciu jego zwiększenie co odpowiadało wzrostowi ogólnej liczby komórek somatycznych. Zakres liczbowy limfocytów w mleku po 23 dniach stosowania preparatu do

dippingu wynosił od 7 do 485 tys., przed badaniami - od 4 do 273 tys. Średnia dla granulocytów obecnych w mleku przed rozpoczęciem badań wynosiła 574 08,50, po 23 dniach testowania kąpieli strzyków - 93 637,50. Zwiększenie ich liczby wynikało ze wzrostu poziomu tego rodzaju ciał odpornościowych u sześciu zwierząt, ale tylko u dwóch krów wzrost ten był znaczny i przekraczał u jednej sztuki 23 tys., zaś u drugiej – 690 tys. U 4 krów nastąpiła redukcja poziomu granulocytów, w tym u dwóch sztuk była ona także znaczna. Dla makrofagów przeciętny ich poziom w mleku przed rozpoczęciem badań wynosił 79 218,00, zaś po okresie doświadczalnym – 118 729,00. Przed badaniami liczba komórek żernych mieściła się w przedziale między 21 600 a 289 440, zaś po badaniach – od 39 200 do 575 400. Podkreślić jednak należy, że po tym okresie w grupie doświadczalnej znajdowały się tylko 2 sztuki z poziomem makrofagów powyżej 100 tys., u pozostałych 8 krów makrofagi liczyły od 39 200 do 96 350, a najczęściej zwierząt charakteryzowało się liczbą komórek żernych na poziomie ok. 55 tys. W przypadku komórek nabłonkowych ich średnia wartość dla grupy przed rozpoczęciem badań wynosiła 87 688,50, po okresie doświadczalnym – 150 937,5. Różnica ta wynikała ze wysokiego wzrostu poziomu nabłonków przede wszystkim u jednej sztuki. U 4 krów nastąpiło obniżenie liczby komórek nabłonkowych w tym u dwóch sztuk – znaczne, tj. z 675 360 do 117 750 oraz z 102 250 do 980. Podobnie jak w przypadku granulocytów ich przedział wartości u krów był bardzo różny i wynosił 575-675 360 (przed badaniami) oraz 980-1 272 600 (po badaniach). Po okresie 23 dni badań nad preparatem 25b procentowa liczba krów o przekroczonej normy dla mleka wynosiła 20 % zwierząt w grupie, co stanowiło wzrost o 10% względem stanu początkowego. Średni poziom lks także został przekroczony względem normy dla mleka. Jednak pod względem ilościowym krów o zbyt wysokim lks przez 23 dni pozostał on na stałym poziomie.

Zastosowanie preparatu 25b, jak wykazały badania mleka wykonane na urządzeniu BacSomatic, spowodowały w ciągu dwóch tygodni wyraźny spadek ogólnej liczby bakterii (IBC) ze średniego poziomu 144 do 67 (tabela 14). Także nastąpił wyraźny spadek liczby jednostek tworzących kolonie (CFU) z 63 do 26. Ogólny poziom lks obniżył się ze średniego poziomu 609 222 tys. komórek do 543 000.

W przypadku preparatu 26a jak wykazały badania mleka w badanym okresie odnotowano spadek ogólnej liczby bakterii (IBC) ze średniego poziomu 165 do 51. Odnotowano także spadek liczby jednostek tworzących kolonie (CFU) z 77 do 18. Badany poziom lks po zastosowaniu preparatu wyraźnie wzrósł z poziomu 135125 tys. do poziomu 484 875 tys. Tym samym proponowany preparat zdecydowanie słabiej zadziała w omawianym okresie niż 25b.

Tabela 8

Badania poziomu komórek somatycznych w mleku krów po zastosowaniu preparatu 26a - Chorzelów

Przed dippingiem						24 godziny po dippingu						
Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.	n	Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.
575	412 000	61 800	115 360	131 840	103 000	1	575	249 000	37 350	44 820	117 030	49 800
813	244 000	36 600	43 920	114 680	48 800	2	813	89 000	14 240	1 865	71 200	1 785
1077	776 000	116 400	217 280	248 320	194 000	3	1077	777 000	176 550	217 560	248 640	194 250
1105	32 000	5 120	635	25 600	645	4	1105	22 000	3 520	435	17 600	445
1902	81 000	12 960	1 615	64 800	1 625	5	1902	80 000	12 800	1 605	64 000	1 595
1917	31 000	4 960	625	24 800	615	6	1917	46 000	7 360	925	36 800	915
6613	185 000	27 750	33 300	86 950	37 000	7	6613	24 000	3 840	475	19 200	485
7587	220 000	33 000	39 600	103 400	44 000	8	7587	246 000	36 900	44 280	115 620	49 200
9346	1 070 000	181 900	246 100	192 600	449 400	9	9346	16 364 000	2 78 880	3 763 720	2 945 520	6 872 880
średnia	339000,00	53387,78	77603,89	110332,22	97676,11		średnia	1988555,56	63493,33	452853,89	403956,67	796817,22
sd	359381,07	59393,73	94532,99	73699,88	145786,50		sd	5087403,40	91812,54	1172424,25	901082,26	2149027,20
% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					22,2%		% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					22,2%

lks - liczba komórek somatycznych

Tabela 9

Badania poziomu komórek somatycznych w mleku krów po zastosowaniu preparatu 25b - Chorzelów

Przed dippingiem						24 godziny po dippingu						
Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.	n	Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.
852	29 000	4 640	585	23 200	575	1	852	1 618 000	275 060	372 140	291 240	679 560
1019	117 000	17 550	21 060	54 990	23 400	2	1019	649 000	97 350	181 720	207 680	162 250
1050	218 000	32 700	39 240	102 460	43 600	3	1050	27 000	4 320	545	21 600	535
1882	38 000	6 080	765	30 400	755	4	1882	55 000	8 800	1 105	44 000	1 095
6111	46 000	7 360	915	36 800	925	5	6111	7 000	1 120	145	5 600	135
6113	1 608 000	273 360	369 840	289 440	675 360	6	6113	1 399 000	237 830	321 770	251 820	587 580
6572	174 000	26 100	31 320	81 780	34 800	7	6572	14 000	2 240	275	11 200	285
6579	27 000	4 320	535	21 600	545	8	6579	16 000	2 560	315	12 800	325
6603	409 000	61 350	114 520	130 880	102 250	9	6603	175 000	26 250	31 500	82 250	35 000
6616	44 000	7 040	885	35 200	875	10	6616	21 000	3 360	425	16 800	416
7640	143 000	21 450	25 740	67 210	28 600	11	7640	122 000	18 300	21 960	57 340	24 400
średnia	259 363,64	419 95,45	550 36,82	79 450,91	82 880,45		średnia	360 181,82	59 670,91	81 915,91	86 116,36	132478,73
sd	461734,18	78606,11	109638,73	77921,44	198868,2		sd	599167,89	101496,82	142027,63	108084,17	253163,60
% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					9%		% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					27%

lks - liczba komórek somatycznych

Tabela 10

Badania poziomu komórek somatycznych w mleku krów po zastosowaniu preparatu 26a - Chorzelów

Przed dippingiem						W 10 dniu dippingu						
Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.		Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.
575	412 000	61 800	115 360	131 840	103 000	1	575	90 000	14 400	1 795	72 000	1 805
813	244 000	36 600	43 920	114 680	48 800	2	813	56 000	8 960	1 115	44 800	1 125
1077	776 000	116 400	217 280	248 320	194 000	3	1077	28 000	4 480	555	22 400	565
1105	32 000	5 120	635	25 600	645	4	1105	16 000	2 560	325	12 800	315
1902	81 000	12 960	1 615	64 800	1 625	5	1902	19 000	3 040	385	15 200	375
1917	31 000	4 960	625	24 800	615	6	1917	91 000	14 560	1 815	72 800	1 825
6613	185 000	27 750	33 300	86 950	37 000	7	6613	785 000	117 250	219 800	251 200	196 250
7587	220 000	33 000	39 600	103 400	44 000	8	7587	118 000	17 700	21 240	55 460	23 600
9346	1 070 000	181 900	246 100	192 600	449 400	9	9346	46 000	7 360	915	36 800	925
średnia	339000,00	53387,78	77603,89	110332,22	97676,11		średnia	138777,78	21145,56	27549,44	64828,89	25198,33
sd	338827,72	55996,94	89126,55	69484,91	137448,83		sd	244910,58	36445,70	72406,48	73394,44	64581,04
% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					22%		% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					11%

lks – liczba komórek somatycznych

Tabela 11

Badania poziomu komórek somatycznych w mleku krów po zastosowaniu preparatu 25b - Chorzelów

Przed dippingiem						W 10 dniu dippingu						
Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.	n	Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.
852	29 000	4 640	585	23 200	575	1	852	23 000	3 680	465	18 400	455
1019	117 000	17 550	21 060	54 990	23 400	2	1019	31 000	4 960	625	24 800	615
1050	218 000	32 700	39 240	102 460	43 600	3	1050	2 345 000	398 650	539 350	422 100	984 900
1882	38 000	6 080	765	30 400	755	4	1882	29 000	4 640	585	23 200	575
6111	46 000	7 360	915	36 800	925	5	6111	145 000	23 200	2 905	116 000	2 895
6113	1 608 000	273 360	369 840	289 440	675 360	6	6113	440 000	66 000	123 200	140 800	110 000
6579	27 000	4 320	535	21 600	545	7	6579	8 000	1 280	185	6 400	175
6603	409 000	61 350	114 520	130 880	102 250	8	6603	7 000	1 120	135	5 600	145
6616	44 000	7 040	885	35 200	875	9	6616	177 000	26 550	31 860	83 190	35 400
7640	143 000	21 450	25 740	67 210	28 600	10	7640	31 000	4 960	625	24 800	615
średnia	267900,00	43585,00	57408,50	79218,00	87688,50		średnia	323600,00	53504,00	69993,50	86529,00	113577,5
sd	485794,76	82671,56	115271,55	82132,38	208950,49		sd	722742,80	122918,83	169348,64	127225,15	308111,1
% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					10%		% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					10%

lks – liczba komórek somatycznych

Tabela 12

Badania poziomu komórek somatycznych w mleku krów po zastosowaniu preparatu 26a - Chorzelów

Przed dippingiem						W 23 dniu dippingu						
Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.	n	Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.
CH 575	412 000	61 800	115 360	131 840	103 000	1	CH 575	559 800	148 000	135 800	162 800	113 200
CH 813	244 000	36 600	43 920	114 680	48 800	2	CH 813	370 000	62 900	74 000	125 800	107 300
CH 1077	776 000	116 400	217 280	248 320	194 000	3	CH 1077	480 000	72 000	134 400	153 600	120 000
CH 1105	32 000	5 120	635	25 600	645	4	CH 1105	93 000	14 880	1 865	74 400	1 855
CH 1902	81 000	12 960	1 615	64 800	1 625	5	CH 1902	69 000	11 040	1 380	55 200	1 380
CH 1917	31 000	4 960	625	24 800	615	6	CH 1917	144 000	21 600	25 920	67 680	28 800
CH 6613	185 000	27 750	33 300	86 950	37 000	7	CH 6613	675 000	100 550	189 700	216 000	168 750
CH 7587	220 000	33 000	39 600	103 400	44 000	8	CH 7587	370 000	62 900	74 000	125 800	107 300
CH 9346	1 070 000	181 900	246 100	192 600	449 400	9	CH 9346	507 000	76 050	141 960	162 240	126 750
średnia	339000,00	53387,78	77603,89	110332,22	97676,11		średnia	363088,89	63324,44	86558,33	127057,78	86148,33
sd	338827,72	55996,94	89126,55	69484,91	137448,83		sd	217340,22	44179,62	67861,86	53145,75	60024,90
% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					22%		% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					33%

lks – liczba komórek somatycznych

Tabela 13

Badania poziomu komórek somatycznych w mleku krów po zastosowaniu preparatu 25b - Chorzelów

Przed dippingiem						W 23 dniu dippingu						
Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.	n	Numer krowy	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.
852	29 000	4 640	585	23 200	575	1	852	3 030 000	485 100	696 900	575 400	1 272 600
1019	117 000	17 550	21 060	54 990	23 400	2	1019	119 000	17 850	21 420	55 930	23 800
1050	218 000	32 700	39 240	102 460	43 600	3	1050	70 000	11 200	1 395	56 000	1 405
1882	38 000	6 080	765	30 400	755	4	1882	69 000	11 040	1 380	55 200	1 380
6111	46 000	7 360	915	36 800	925	5	6111	53 000	8 480	1 060	42 400	1 060
6113	1 608 000	273 360	369 840	289 440	675 360	6	6113	471 000	70 650	131 880	150 720	117 750
6579	27 000	4 320	535	21 600	545	7	6579	128 000	19 200	23 040	60 160	25 600
6603	409 000	61 350	114 520	130 880	102 250	8	6603	49 000	7 840	980	39 200	980
6616	44 000	7 040	885	35 200	875	8	6616	205 000	30 750	36 900	96 350	41 000
7640	143 000	21 450	25 740	67 210	28 600	10	7640	119 000	17 850	21 420	55 930	23 800
średnia	267900,00	43585,00	57408,50	79218,00	87688,50		średnia	431300,00	67996,00	93637,50	118729,00	150937,5
sd	485794,76	82671,56	115271,55	82132,38	208950,49		sd	921601,63	147727,61	215560,81	163812,98	395675,1
% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					10%		% krów o przekroczonej normie jakościowej mleka					20%

lks – liczba komórek somatycznych

Tabela 14

Wyniki badania czystości mikrobiologicznej mleka - ogólnej liczby bakterii (IBC), jednostek tworzących kolonie (CFU) oraz liczby komórek somatycznych (LKS) z zastosowaniem urządzenia BacSomatik w mleku krów z gospodarstwa w Chorzelowie

Numer krowy	Preparat	W 10 dniu dippingu			W 23 dniu dippingu		
		IBC	CFU	LKS	IBC	CFU	LKS
852	25 B	61	21	487000	247	112	3387000
1019	25 B	-	-	-	-	-	-
1050	25 B	67	24	4310000	21	6	49000
1882	25 B	77	28	14000	18	5	33000
6111	25 B	40	13	167000	30	9	49000
6113	25 B	128	52	336000	70	25	486000
6579	25 B	329	156	122000	-	-	-
6603	25 B	73	26	4000	46	15	30000
6616	25 B	445	223	17000	73	26	197000
7640	25 B	84	31	26000	35	11	113000
średnia		144,89	63,78	609 222,22	67,50	26,13	543 000,00
sd		142,23	73,97	1397754,87	75,40	35,60	1159281,92
575	26A	254	115	123000	58	20	1738000
813	26A	227	101	113000	165	69	371000
1077	26A	59	21	389000	55	19	583000
1105	26A	72	26	115000	54	18	89000
1902	26A	18	5	13000	20	6	33000
1917	26A	620	330	19000	3	1	135000
6613	26A	-	-	-	-	-	-
7587	26A	23	6	230000	21	6	370000
9346	26A	48	16	87000	32	10	560000
średnia		165,13	77,5	136 125,00	51,00	18,63	484 875,00
sd		204,99	110,65	122592,74	50,14	21,53	547080,41

Wyjaśnienie zastosowanych skrótów: IBC – (z ang. *Individual Bacteria Count*) pojedyncza liczba bakterii, LKS – liczba komórek somatycznych, CFU (z ang. *colony forming units*) – jednostki tworzące kolonie

W tabeli 15 przedstawiono skład mikrobiologiczny ze wskazaniem nasilenia wzrostu gronkowców oraz pałeczek Gram ujemnych, uzyskany na podstawie wymazów ze strzyków od krów z gospodarstwa ZDD w Chorzelowie, przed rozpoczęciem oraz w trakcie stosowania ziołowego preparatu do dippingu strzyków (w 10 i 23 dniu) o numerze 25b. U żadnej z krów z grupy doświadczalnej przed badaniami nie stwierdzono obecności gronkowca złocistego, u trzech sztuk w trakcie hodowli przed rozpoczęciem dippingu wyizolowano jednak szczep *Staphylococcus chromogenes* o wzroście miernym. *Staphylococcus chromogenes* jest Gram-dodatnim, koagulazo-ujemnym członkiem rodzaju bakteryjnego *Staphylococcus* składającego się ze skupionych ziarniaków. Gatunek jest związany z zapaleniem strzyków u krów mlecznych. U dwóch sztuk nie stwierdzono obecności żadnego z gatunków gronkowców oraz bakterii Gram ujemnych, zarówno przed rozpoczęciem badań jak i przez cały okres stosowania dippingu. U większości sztuk (6 krów) przed rozpoczęciem badań spośród bakterii Gram dodatnich dominował rodzaj *Pseudomonas*, w tym u 4 zwierząt zidentyfikowano szczep *P. aeruginosa* o wzroście skąpym lub miernym. Jedna sztuka charakteryzowała się obecnością

pałeczek enterobakteryjnych o skąym wzroście. Po 10 oraz 23 dniach stosowania preparatu do dippingu u żadnej z badanych krów nie stwierdzono obecności bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. W 10 dniu doświadczenia u 1 sztuki wyhodowano ze strzyków bakterie kałowe *Escherichia coli*, które charakteryzował mierny oraz obfity wzrost. Bakterię tę, cechującą się mierną intensywnością wzrostu stwierdzono także u jednej sztuki po 23 dniach doświadczenia, było to jednak inne zwierzę niż krowy, u których wyizolowano *E. coli* po 10 dniach badań. U tej samej sztuki stwierdzono także obecność bakterii z rodzaju *Acinetobacter spp.* Na podkreślenie zasługuje fakt, iż zastosowanie preparatu spowodowało całkowite zahamowanie wzrostu gronkowca *Staphylococcus chromogenes* u 2 sztuk, zarówno po 10 jak i 23 dniach stosowania dippingu. Bakteria ta pojawiła się u innego zwierzęcia, ale wraz z wydłużaniem czasu trwania dippingu intensywność jego namnażania ulegała zmniejszeniu w 10 dniu aby następnie wzrosnąć w 23 dniu. .

Tabela 16 przedstawia wyniki posiewów w kierunku innych patogenów oraz grzybów i pleśni pozyskanych ze strzyków krów z gospodarstwa w Chorzelowie, przed oraz po zastosowaniu preparatu do dippingu o numerze 25b. U wszystkich sztuk przed rozpoczęciem badań stwierdzono obecność Gram dodatnich bakterii z rodzaju *Corynebacterium spp.*, które cechują się wysoką zjadliwością, immunosupresyjnością i chorobotwórczością. Zastosowanie preparatu do dippingu spowodowało u dwóch sztuk całkowite zahamowanie wzrostu bakterii z tego rodzaju, zarówno w 10 jak i 23 dniu badań, natomiast u kolejnych trzech – całkowitą eliminację maczugowców po 23 dniach stosowania dippingu ziołowego. Przed rozpoczęciem badań u 6 sztuk stwierdzono obecność bakterii z rodzaju *Bacillus* o wzroście od skąpego do średnio obfitego, po 10 dniach stosowania preparatu obecne były one już tylko u jednej sztuki i echowały się miernym wzrostem, natomiast po zakończonym okresie badań ich obecność stwierdzono ponownie u 5 sztuk. W odniesieniu do promieniowców, ich wzrost o charakterze skąym stwierdzono u 6 sztuk przed rozpoczęciem badań, po 10 dniach doświadczenia były one obecne tylko u dwóch sztuk, zaś po 23 dniach badań – u 3 krów, jednak ich poziom zasiedlenia strzyków samic nadal określono na skąpy. Ze strzyków 4 krów przed rozpoczęciem doświadczenia wyizolowano także Gram dodatnie bakterie z rodzaju *Micrococcus*, w tym u dwóch zwierząt zidentyfikowano szczep *Micrococcus luteus*. Jest to powszechnie bytująca w środowisku oraz na powierzchni ciała zwierząt tlenowa bakteria, będąca względnie chorobotwórcza jedynie w warunkach obniżonej odporności zwierzęcia. Po okresie 10 dni stosowania preparatu do dippingu obecność bakterii z rodzaju *Micrococcus*, o miernej intensywności wzrostu, stwierdzono tylko u jednej sztuki, zaś po 23 dniach badań – stwierdzono całkowite zahamowanie ich wzrostu. Kolejnym drobnoustrojem wyizolowanym ze strzyków krów przed rozpoczęciem doświadczenia były Gram dodatnie, katalazo-ujemne bakterie *Aerococcus viridans*. Ich wzrost od skąpego do średnio obfitego stwierdzono u 3 sztuk. Po 10 dniach badań bakterie te wyhodowano z wymazów od 7 zwierząt, a wzrost ich kolonii określono na średnio obfity oraz obfity. Po zakończeniu doświadczenia *Aerococcus viridans* obecne były w posiewach pozyskanych od 4 krów, a wzrost tych bakterii ograniczony został do miernego lub średnio obfitego. Przed rozpoczęciem stosowania ziołowego dippingu strzyków, praktycznie u wszystkich krów z wyjątkiem jednej sztuki stwierdzono obecność grzybów pleśniowych o skąym wzroście. Po 10 dniach stosowania preparatu do dippingu, wzrost pleśni został ograniczony i stwierdzony tylko u 4 krów oraz nadal cechował się skąpą intensywnością. Wraz z zakończeniem doświadczenia grzyby pleśniowe wyizolowano już tylko ze strzyków dwóch sztuk. W odniesieniu do drożdżaków z rodzaju *Candida* przed rozpoczęciem badań, ich skąpy wzrost stwierdzono na posiewie pozyskanym tylko od jednej krowy. Po 10 dniach stosowania dippingu, obecność tych drożdżaków oznaczono w posiewach od 5 sztuk, a intensywność ich namnażania określono jako skąpą lub mierną. Po 23 dniach doświadczenia grzyb ten stwierdzono ponownie tylko u jednego zwierzęcia – była to ta sama sztuka, u której wyhodowano grzyby *Candida* przed badaniami.

W tabeli 17 przedstawiono wyniki badań mikrobiologicznych mleka w kierunku gronkowców oraz bakterii Gram ujemnych przed oraz w trakcie stosowania preparatu 25b w ZZD w Chorzelowie. Przed rozpoczęciem doświadczenia, na podstawie wykonanych posiewów, w mleku pozyskanym od 4 sztuk stwierdzono obecność gronkowców w tym z gatunku *Staphylococcus chromogenes* o wzroście miernym oraz średnio obfitym (u dwóch sztuk), gronkowca złocistego *Staphylococcus aureus* o intensywnym stopniu namnażania (u jednej sztuki) oraz szczepu *Staphylococcus warneri* o miernej intensywności wzrostu (u jednej sztuki). Po 10 dniach stosowania preparatu gronkowca z gatunku *Staphylococcus chromogenes* o wzroście skąpym oraz średnio obfitym wyhodowano z mleka 3 krów, z tym że były to sztuki, w mleku których przed badaniami nie stwierdzono obecności żadnego z gatunków tej chorobotwórczej bakterii. Po 23 dniach stosowania dippingu gronkowce wyizolowano z mleka 10 krów, w tym od 6 sztuk był to gatunek *S. chromogenes* charakteryzujący się miernym wzrostem, w mleku 4 zwierząt oznaczono nie występujące do tej pory szczepy *S. saprophyticus* (2 krowy – wzrost skąpy oraz średnio obfity) oraz *S. sciuri* (2 krowy – wzrost średnio obfity). W mleku jednego zwierzęcia stwierdzono obecność dwóch szczepów gronkowca jednocześnie. Spośród pałeczek Gram ujemnych, przed rozpoczęciem badań, w mleku od 4 krów wyhodowano bakterie kałowe *Escherichia coli* charakteryzujące się miernym oraz obfitym wzrostem. Po 10 dnia stosowania preparatu *E. coli* występowała nadal w mleku 4 sztuk i cechowała się wzrostem skąpym lub miernym. Po zakończonych badaniach bakteria ta obecna była w mleku pozyskanym od dwóch krów, zaś intensywność jej namnażania określono jako skąpą. Kolejnym drobnoustrojem z grupy bakterii Gram ujemnych wyizolowanych z mleka krów przed rozpoczęciem doświadczenia były bakterie z rodzaju *Pseudomonas spp.*, których obecność stwierdzono w mleku od 5 krów, w tym u 3 sztuk oznaczono szczep *P. aeruginosa* o wzroście skąpym lub miernym. W środkowym okresie badań nie stwierdzono obecności tej bakterii w mleku ani jednej sztuki. Po zakończonych badaniach wzrost pałeczek z rodzaju *Pseudomonas spp* stwierdzono w mleku 2 krów i była to skąpa oraz mierna intensywność namnażania. Z mleku jednego zwierzęcia, w 10 dniu stosowania dippingu, wyhodowano niefermentującą, względnie oportunistyczną bakterię z rodzaju *Stenotrophomonas*, która nie pojawiła się już w późniejszym etapie badań u żadnej sztuki. Po 23 dniach doświadczeń w mleku od 4 krów stwierdzono obecność pałeczek *Acinetobacter spp.* o wzroście od skąpego do obfitego. Bakterie te nie pojawiły się w mleku zarówno przed jak i po 10 dniach stosowania preparatu do dippingu.

Wyniki badań mikrobiologicznych mleka w kierunku innych drobnoustrojów oraz grzybów i pleśni przed oraz w trakcie stosowania preparatu 25b w gospodarstwie w Chorzelowie zaprezentowano w tabeli 18. W mleku 9 spośród 10 krów przed rozpoczęciem dippingu stwierdzono obecność maczugowców z rodzaju *Corynebacterium spp* charakteryzujących się wzrostem od miernego do obfitego. Zarówno po 10 jak i 23 dniach stosowania preparatu do kąpieli strzyków bakterie te utrzymywały się nadal w mleku 9 krów, a stopień ich wzrostu uległ zwiększeniu do poziomu obfitego (w 10 dniu). Bakterię z rodzaju *Bacillus*, przed rozpoczęciem badań, stwierdzono w mleku pozyskanym od 1 sztuki. Po 10 dniach od wprowadzenia preparatu pałeczki tej nie wyizolowano z mleka od żadnego zwierzęcia, natomiast po 23 dniach pojawiła się ona w mleku 7 spośród 10 krów i cechowała się miernym lub średnio obfitym wzrostem. Kolejnym drobnoustrojem wyhodowanym z mleka krów przed rozpoczęciem dippingu była rzadka Gram-dodatnia, katalazo dodatnia, koagulazo-ujemna bakteria z gromady *Actinobacteria - Kocuria palustris*. Przed badaniami jej obecność stwierdzono w mleku 5 krów. Zarówno po 10 jak i 23 dniach stosowania dippingu, bakterii tej nie oznaczono już w mleku żadnej sztuki. W mleku 6 krów, przed rozpoczęciem doświadczenia, stwierdzono obecność ziarniaków *Aerococcus viridans*, przeważnie o miernym typie wzroście. Intensywność namnażania tej bakterii wzrosła w 10 oraz 23 dniu stosowania preparatu – wyizolowano ją z mleka 9 spośród 10 krów w 10 dniu badań oraz 6 sztuk w 23 dniu doświadczenia. Bakterie z

rodzaju *Micrococcus spp* przed rozpoczęciem badań wyhodowano z mleka 4 krów, w tym u 2 sztuk oznaczono gatunki *M. luteus* o miernym wzroście oraz u 2 krów był to gatunek *M. roseus* również charakteryzujący się mierną intensywnością namnażania. W 10 dniu stosowania dippingu bakterie z tego rodzaju stwierdzono tylko u w mleku od jednej krowy, natomiast po 23 dniach badań – nie wyizolowano jej już z mleka od żadnej sztuki. W trakcie trwania badań (10 dzień) z mleka od 3 krów wyhodowano bakterię *Lactococcus garvieae*, której obecności nie stwierdzono przed wprowadzeniem kąpieli strzyków. Bakterii tej nie stwierdzono także po zakończonym doświadczeniu w mleku żadnej krowy. Po 23 dniach stosowania dippingu w mleku jednej sztuki pojawiła się Gram-dodatnia bakteria psychotroficzna *Brevibacterium senegalense* cechująca się miernym wzrostem. Bakterii tej nie stwierdzono wcześniej w mleku żadnej sztuki. W mleku 3 krów, po zakończonych badaniach (w 23 dniu dippingu) stwierdzono obecność promieniowców o skąym wzroście. Drobnoustroje te nie były wcześniej obecne w mleku żadnej ze sztuk doświadczalnych.

W tabeli 19 zamieszczono wyniki posiewów mikrobiologicznych w kierunku gronkowców oraz bakterii Gram ujemnych pochodzących ze strzyków krów przed oraz w trakcie stosowania dippingu ziołowego w gospodarstwie ZDD w Chorzelowie. Przed rozpoczęciem stosowania preparatu obecność gronkowców dwóch typów stwierdzono u 3 krów – były to gronkowce *Staphylococcus chromogenes* i *Staphylococcus sciuri* o skąym oraz miernym tempie wzrostu. W 10 dniu badań żadnego z typów gronkowców nie oznaczono w wymazach od ani jednej krowy. Bakterie te pojawiły się jednak ponownie w 23 dniu doświadczenia, tym razem u 5 krów – nadal charakteryzowała je skąpa oraz mierna intensywność namnażania. U dwóch sztuk zidentyfikowano dwa nowe szczepy gronkowca – *Staphylococcus sciuri* oraz *Staphylococcus haemolyticus*. Spośród pałeczek Gram ujemnych przed rozpoczęciem testowania ziołowej kąpieli strzyków, wyizolowano z nich (od 4 sztuk) bakterie kałowe *Escherichia coli* o miernym typie wzrostu (1 krowa) oraz bakterie z rodzaju *Pseudomonas spp* (3 krowy), w tym u jednej sztuki szczep *P. aeruginosa* – pałeczkę ropy błękitnej. Pałeczek tych nie stwierdzono w wymazach po 10 dniach stosowania preparatu, natomiast po 23 dniach badań bakterie z omawianego rodzaju obecne były tylko u jednej krowy i nadal cechował je skąpy wzrost. *E. coli* w trakcie trwania doświadczenia nie udało się całkowicie wyeliminować – po 10 dniach były one obecne u 4 krów i odznaczały się tempem namnażania od skąpego do średnio obfitego, zaś po 23 dniach ich obecność stwierdzono na strzykach jednej krowy i cechował je mierny wzrost.

Tabela 20 przedstawia wyniki badań mikrobiologicznych strzyków (wymazów) w kierunku innych drobnoustrojów oraz grzybów i pleśni przed oraz w trakcie stosowania preparatu 26a w Chorzelowie. Przed rozpoczęciem badań u wszystkich sztuk doświadczalnych stwierdzono na strzykach obecność bakterii z rodzaju *Corynebacterium spp* o typie wzrostu od skąpego do obfitego. W 10 dniu stosowania dippingu obecności maczugowców nie stwierdzono u jednej krowy spośród grupy doświadczalnej, u pozostałych 8 nadal izolowano ją ze strzyków, nasileniu uległ także ich wzrost – do średnio obfitego i obfitego. Zastosowany preparat ziołowy o numerze 26a spowodował jednak wyeliminowanie bakterii z rodzaju *Corynebacterium spp* po 23 dniach stosowania u 6 krów w grupie. Osłabieniu uległo także tempo namnażania maczugowców – do miernego u jednej sztuki oraz średnio obfitego u drugiej; u trzeciej krowy intensywność ich wzrostu nadal była obfita. U 5 krów z grupy testowej przed rozpoczęciem doświadczenia stwierdzono na strzykach obecność bakterii z rodzaju *Micrococcus spp*, w tym u 3 zwierząt były to szczepy *M. luteus*, a u jednego zarówno *M. luteus* jak i *M. roseus*, które cechował wzrost mierny. Po 10 dniach stosowania dippingu obecność tych bakterii stwierdzono tylko u jednej sztuki, zaś po 23 dniach badań – nie wyhodowano ich u żadnej z krów. Kolejnym względnie chorobotwórczo patogenem wyizolowanym ze strzyków zwierząt przed doświadczeniem, była Gram dodatnia bakteria *Kocuria palustris*, którą stwierdzono u 3 krów. Cechował ją mierny typ wzrostu. Zastosowany preparat dippingowy spowodował całkowite

zahamowanie wzrostu bakterii *K. palustris* u wszystkich krów w grupie, zarówno w 10 jak i w 23 dniu doświadczeń. W odniesieniu do bakterii *Aerococcus viridans* jej obecność przed rozpoczęciem stosowania ziołowego preparatu do poudojowej kąpieli strzyków stwierdzono u 5 sztuk w analizowanej grupie. Cechował ją skąpy oraz mierny wzrost. Po 10 dniach badań bakterię tę wyhodowano w posiewach pochodzących ze strzyków 8 krów, w tym u 3, u których przed rozpoczęciem doświadczenia nie stwierdzono jej obecności. U 3 krów intensywność namnażania *A. viridans* uległa zwiększeniu. Po 23 dniach badań bakterię tę wyhodowano ze strzyków tylko 3 sztuk, osłabieniu uległ także ich wzrost – do miernego. Przed przystąpieniem do doświadczenia, u jednego zwierzęcia stwierdzono obecność bakterii z rodzaju *Bacillus* o średnio obfitym wzroście. Zarówno po 10 jak i 23 dnach stosowania preparatu 26a, bakterie z rodzaju *Bacillus* wyizolowano ze strzyków 3 krów. Zmniejszeniu uległo natomiast tempo ich namnażania – do miernego. U sześciu zwierząt przed wprowadzeniem kąpieli strzyków stwierdzono na nich obecność promieniowców o skąym lub miernym tempie wzrostu. Zastosowany preparat wpłynął na ograniczenie wzrostu tej grupy drobnoustrojów – po 10 dniach stosowania promieniowce stwierdzono tylko u jednej sztuki, zaś po 23 dniach badań – u dwóch. Nadal cechował je wzrost skąpy. W trakcie prowadzonych badań u jednej sztuki w 10 dniu stosowania dippingu zaobserwowano pojawienie się bakterii *Lactococcus garvieae* o średnio obfitym wzroście. Bakteria ta nie była jednak już obecna po 23 dniach doświadczenia, nie stwierdzono jej także przed rozpoczęciem dippingu. Obecność pleśni o skąym oraz miernym tempie namnażania stwierdzono u wszystkich krów w grupie przed wprowadzeniem preparatu do kąpieli strzyków. Zastosowana kąpiel wpłynęła na całkowitą eliminację grzybów pleśniowych u 4 krów po 10 dniach jej testowania oraz u większości zwierząt (8 sztuk) po 23 dniach stosowania preparatu. Drożdżaki z rodzaju *Candida* przed rozpoczęciem badań stwierdzono w wymazach od jednej sztuki. Charakteryzował je wzrost mierny. W 10 dniu doświadczenia obecność tych grzybów zaobserwowano u 6 krów, a ich wzrost określono na skąpy i mierny. Zastosowany preparat ziołowy pozwolił na całkowitą eliminację drożdżaków z rodzaju *Candida* u wszystkich sztuk w grupie po 23 dniach od jego wprowadzenia.

Wyniki posiewów mleka w kierunku gronkowców oraz pałeczek Gramm ujemnych przed oraz w trakcie stosowania preparatu 26a w ZDD w Chorzelowie zamieszczono w tabeli 21. Przed rozpoczęciem badań obecność gronkowców stwierdzono w mleku u dwóch sztuk w grupie doświadczalnej, w tym u jednej wyhodowano dwa gatunki jednocześnie *Staphylococcus chromogenes* i *Staphylococcus sciuri* o miernym tempie wzrostu. W 10 dniu stosowania dippingu gronkowiec *S. chromogenes* obecny był w mleku jednej sztuki i cechował go skąpy wzrost. W tym okresie z mleka jednego zwierzęcia wyizolowano bakterię *Macroccoccus caseolyticus* o skąym wzroście, która pod pewnymi cechami odpowiada grupie gronkowców. Patogen ten nie pojawił się więcej w mleku żadnej z krów. Po 23 dniach stosowania dippingu gronkowce wyizolowano z mleka 6 krów w tym w mleku pochodzącym od 4 sztuk wyhodowano po 2 gatunki tych bakterii. Były to gatunki *Staphylococcus chromogenes*, *S. sciuri*, *S. haemolyticus* oraz *S. xylosus*, które cechował wzrost od skąpego do średnio obfitego. Przed badaniami w mleku od 2 krów obecna była pałeczka kałowa *Escherichia coli*, zaś od jednej krowy – pałeczka ropy błękitnej *Pseudomonas aeruginosa* oraz inne pałeczki z rodzaju *Pseudomonas spp.* Bakterie te, zarówno *E. coli* jak i *Pseudomonas* cechował skąpy lub mierny wzrost. Po 10 oraz 23 dniach dippingu *E. coli* wyizolowano z mleka od dwóch krów a ich wzrost określono na skąpy lub mierny. Pałeczek *Pseudomonas spp* nie stwierdzono w mleku żadnej z krów w 10 dniu badań, natomiast w 23 dniu dippingu wyizolowano je z mleka dwóch krów. Cechował je skąpy lub mierny wzrost. Po 10 dniach od wprowadzenia preparatu, w mleku 4 sztuk stwierdzono obecność nie wyhodowanych wcześniej pałeczek *Stenotrophomonas*, charakteryzujących się skąym lub miernym tempem namnażania. Bakterie te nie pojawiły się w mleku po 23 dniach badań. W mleku pochodzącym od 2 krów stwierdzono w 10 dniu doświadczenia incydentalne pojawienie się Gram ujemnych bakterii jelitowych z

rodzaju *Morganella* o skąym wzroście. Bakterii tych nie wyizolowano z mleka zarówno przed jak i po 23 dniach badań. W 23 dniu dippingu w mleku od 5 krów stwierdzono obecność pałeczek z rodzaju *Acinetobacter spp* o skąym lub miernym tempie wzrostu. Bakterii tych nie wyhodowano z mleka żadnej z krów zarówno przed rozpoczęciem, jak i w 10 dniu stosowania dippingu.

W tabeli 22 przedstawiono wyniki analiz mikrobiologicznych mleka w kierunku innych drobnoustrojów oraz grzybów i pleśni przed oraz w trakcie stosowania preparatu 26a pozyskanego od krów na fermie w Chorzelowie. Przed rozpoczęciem dippingu w mleku wszystkich zwierząt w grupie stwierdzono obecność bakterii z rodzaju *Corynebacterium spp*, które cechował wzrost od miernego (2 sztuki), przez średnio obfity (1 sztuka) do obfitego (6 sztuk). W 10 dniu dippingu maczugowce nadal utrzymywały się w mleku większości krów – tylko w mleku od jednej sztuki nie stwierdzono ich obecności. Wzrost bakterii z rodzaju *Corynebacterium spp* nadal określano na średnio obfity oraz obfity. W 23 dniu stosowania kąpieli strzyków, bakterie te wyhodowano nadal z mleka wszystkich zwierząt doświadczalnych, przy czym w niewielkim stopniu zmalała intensywność ich namnażania. Przed rozpoczęciem badań, z mleka dwóch krów wyizolowano bakterię *Kocuria palustris*, która charakteryzowała się miernym tempem wzrostu. Bakterii tej nie stwierdzono w mleku żadnej ze sztuk doświadczalnych, zarówno w 10 jak i 23 dniu zastosowanego dippingu. W mleku 5 krów, przed badaniami, oznaczono Gram dodatnią bakterię hemolityczną *Aerococcus viridans* o skąym lub miernym typie wzrostu. Po 10 dniach od wprowadzenia ziołowego dippingu jej obecność stwierdzono już w mleku 7 zwierząt, a intensywność jej wzrostu określono na średnio obfity. W 23 dniu stosowania kąpieli strzyków, *A. viridans* oznaczono w mleku 5 krów, a tempo wzrostu tej bakterii nadal utrzymywało się na poziomie od średnio obfitego do obfitego. Spośród bakterii Gram dodatnich, przed rozpoczęciem badań, w mleku 5 krów w grupie wyhodowano ziarniste bakterie z rodzaju *Micrococcus spp*, w tym w przypadku 3 sztuk był to szczep *M. luteus*, zaś u dwóch – *M. roseus*. Bakterie te charakteryzowały się skąym lub miernym wzrostem. Zastosowany preparat do dippingu strzyków wpłynął na znaczne zahamowanie wzrostu omawianych drobnoustrojów – zarówno w 10 jak i 23 dniu badań ich obecność stwierdzono w mleku tylko jednej sztuki. W 10 dniu dippingu w mleku jednej krowy oznaczono bakterię *Lactococcus garvieae* cechującą się obfitym wzrostem. Ten nietypowy dla mleka krów patogen stwierdzono wyłącznie w 10 dniu badań, tylko u jednej sztuki. Również tylko w mleku jednego zwierzęcia i wyłącznie w 23 dniu stosowania preparatu oznaczono bakterię psychrotroficzną *Brevibacterium senegalense* o miernym tempie namnażania. Po zakończonym doświadczeniu, w mleku wszystkich krów w grupie stwierdzono obecność bakterii z rodzaju *Bacillus spp*, których nie wyizolowano z mleka zarówno przed jak i w 10 dniu badań. Cechował je skąpy oraz mierny wzrost. Podobna sytuacja dotyczyła promieniowców. Te Gram dodatnie bakterie obecne były tylko w mleku krów w 23 dniu doświadczeń, nie stwierdzono ich obecności przed jak i w 10 dniu badań. Oznaczone zostały w mleku pochodzącym od 2 sztuk, a tempo ich wzrostu określono na skąpe oraz mierne. Grzyby pleśniowe o skąym wzroście stwierdzono w mleku jednej sztuki przed rozpoczęciem stosowania dippingu ziołowego oraz w mleku jednej krowy w 10 dniu badań, przy czym były to dwa różne zwierzęta. Po 23 dniach od wprowadzenia preparatu w mleku żadnej z samic nie oznaczono ani grzybów pleśniowych ani drożdżaków z rodzaju *Candida*. Grzyby *Candida* obecne były w mleku dwóch krów tylko w 10 dniu badań, a ich wzrost określono jako skąpy.

Tabela 15

Badania mikrobiologiczne strzyków (wymaz) w kierunku gronkowców oraz pałeczek Gram ujemnych przed oraz w trakcie stosowania preparatu 25b – Chorzelów.

Numer krowy	Przed dippingiem				W 10 dniu dippingu				W 23 dniu dippingu				
	Gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	Gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	Gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	
852			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+			<i>Escherichia coli</i>	++					
			<i>Enterobacter spp</i>	+									
			<i>Pseudomonas spp</i>	+									
1019			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+++			<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++	<i>Escherichia coli</i>	++	
											<i>Acinetobacter spp.</i>	++	
1050	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+			<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+++			
1882			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+									
6579	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++	<i>Pseudomonas spp.</i>	++									
6603	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++											
7640													

Ocena nasilenia wzrostu:

+ 1-5 CFU/płytkę (wzrost skąpy)

++ 5-50 CFU/płytkę (wzrost mierny)

+++ 50-100 CFU/płytkę (wzrost średnio obfity)

++++ >300 CFU/płytkę niepoliczalne (wzrost obfity)

Tabela 16

Badania mikrobiologiczne strzyków (wymaz) w kierunku innych drobnoustrojów oraz grzybów i pleśni przed oraz w trakcie stosowania preparatu 25b – Chorzelów

Numer krowy	Przed dippingiem				W 10 dniu dippingu				W 23 dniu dippingu			
	Inne drobnoustroje	Nasilenie wzrostu	Grzyby i pleśnie	Nasilenie wzrostu	Inne drobnoustroje	Nasilenie wzrostu	Grzyby i pleśnie	Nasilenie wzrostu	Inne drobnoustroje	Nasilenie wzrostu	Grzyby i pleśnie	Nasilenie wzrostu
852	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	pleśń	+	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	<i>Candida</i>	+++				
	<i>Bacillus</i>	+++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++	pleśń	+				
	<i>promieniowce</i>	+			<i>promieniowce</i>	++						
1019	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	<i>Candida</i>	+	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	<i>Candida</i>	++	<i>Corynebacterium</i>	+++	<i>Candida</i>	+
	<i>Bacillus</i>	+	pleśń	+	<i>Aerococcus viridans</i>	+++	pleśń	+	<i>Bacillus</i>	+++	pleśń	+
			<i>promieniowce</i>	+	<i>promieniowce</i>	+						
1050	<i>Corynebacterium spp.</i>	++			<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	<i>Candida</i>	++	<i>Corynebacterium</i>	+++		
	<i>Bacillus</i>	+			<i>Aerococcus viridans</i>	++++	pleśń	++	<i>Bacillus</i>	++		
	<i>Micrococcus</i>	+			<i>Micrococcus</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++		
					<i>Bacillus</i>	++	<i>promieniowce</i>	+				
1882	<i>Corynebacterium spp.</i>	++	pleśń	+	<i>Corynebacterium spp.</i>	+++	<i>Candida</i>	+				
	<i>promieniowce</i>	+			<i>Aerococcus viridans</i>	+++	pleśń	+				
	<i>Micrococcus luteus</i>	++										
	<i>Aerococcus viridans</i>	+++										
6579	<i>Corynebacterium spp.</i>	+++	pleśń	+	<i>Corynebacterium spp.</i>	+++	<i>Candida</i>	++				
	<i>Kocuria palustris</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++						
	<i>promieniowce</i>	+										
6603	<i>Corynebacterium spp.</i>	+++	pleśń	++	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++			<i>Corynebacterium</i>	++		
	<i>Aerococcus viridans</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Bacillus</i>	++		
	<i>promieniowce</i>	+							<i>Aerococcus viridans</i>	++		
7640	<i>Corynebacterium spp.</i>	+	pleśń	+	<i>Corynebacterium spp.</i>	+++			<i>Corynebacterium</i>	+++		
	<i>Bacillus</i>	+			<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Bacillus</i>	+++		
	<i>Micrococcus</i>	+							<i>Aerococcus viridans</i>	+++		
	<i>promieniowce</i>	+							<i>promieniowce</i>	+		

Tabela 17

Badania mikrobiologiczne mleka w kierunku gronkowców oraz pałeczek Gram ujemnych przed oraz w trakcie stosowania preparatu 25b – Chorzelów

preparat	Numer krowy	Przed dippingiem				W 10 dniu dippingu				W 23 dniu dippingu			
		Gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	Gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	Gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu
25b	852			<i>Escherichia coli</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+++	<i>Escherichia coli</i>	++			<i>Acinetobacter spp</i>	+++
				<i>Pseudomonas spp</i>	+								
25b	1019			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+++	<i>Escherichia coli</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++	<i>Escherichia coli</i>	+
25b	1050			<i>Escherichia coli</i>	++++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+	<i>Escherichia coli</i>	+	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++		
								<i>Stenotrophomonas</i>	+				
25b	1882	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+++	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+					<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	+	<i>Pseudomonas spp</i>	+
				<i>Escherichia coli</i>	++			<i>Acinetobacter spp</i>	+				
25b	6111	<i>Staphylococcus aureus</i>	++++	<i>Pseudomonas spp</i>	+					<i>Staphylococcus sciuri</i>	++	<i>Escherichia coli</i>	+
										<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++	<i>Acinetobacter spp.</i>	+
25b	6113			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++					<i>Staphylococcus sciuri</i>	+++	<i>Acinetobacter spp.</i>	++
								<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++	<i>Pseudomonas spp</i>	++		
25b	6579	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++	<i>Escherichia coli</i>	++								
25b	6603									<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++		
										<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	+++		
25b	7640	<i>Staphylococcus warneri</i>	+					<i>Escherichia coli</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++		
										<i>Staphylococcus sciuri</i>	+++		

Tabela 18

Badania mikrobiologiczne mleka w kierunku innych drobnoustrojów oraz grzybów i pleśni przed oraz w trakcie stosowania preparatu 25b – Chorzelów

preparat	numer krowy	Przed dippingiem				W 10 dniu dippingu				W 23 dniu dippingu					
		Inne drobnoustroje	Nasilenie wzrostu	Grzyby i pleśń	Nasilenie wzrostu	Inne drobnoustroje	Nasilenie wzrostu	Grzyby i pleśń	Nasilenie wzrostu	Inne drobnoustroje	Nasilenie wzrostu	Grzyby i pleśń	Nasilenie wzrostu		
25b	852	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	pleśń	+	<i>Corynebacterium spp</i>	++++	<i>Candida</i>	+	<i>Corynebacterium</i>	+++				
		<i>Bacillus</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Bacillus</i>	++				
		<i>Kocuria palustris</i>	+++												
		<i>Aerococcus viridans</i>	++												
25b	1019	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++			<i>Corynebacterium spp</i>	++++	<i>Candida</i>	+	<i>Corynebacterium</i>	+++				
		<i>Micrococcus</i>	++++			<i>Aerococcus viridans</i>	++++			pleśń	+			<i>Bacillus</i>	++
		<i>Kocuria palustris</i>	++											<i>Promieniowce</i>	+
25b	1050					<i>Corynebacterium spp</i>	++++			<i>Corynebacterium</i>	+++				
						<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++				
						<i>Micrococcus</i>	++								
25b	1882	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	<i>Candida</i>	+	<i>Corynebacterium spp</i>	++++			<i>Corynebacterium</i>	+++				
		<i>Aerococcus viridans</i>	+++			pleśń	+			<i>Aerococcus viridans</i>	++++			<i>Aerococcus viridans</i>	++
										<i>Lactococcus garviae</i>	+++				
25b	6111	<i>Corynebacterium spp</i>	++++	<i>Candida</i>	+	<i>Corynebacterium spp</i>	+++			<i>Corynebacterium</i>	++				
		<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Aerococcus viridans</i>	++			<i>Bacillus</i>	++				
						<i>Lactococcus garviae</i>	++								
25b	6579	<i>Corynebacterium spp</i>	++++	pleśń	+	<i>Corynebacterium spp</i>	+++								
		<i>Kocuria palustris</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++								
		<i>Aerococcus viridans</i>	++												
25b	6603	<i>Corynebacterium spp</i>	+++			<i>Corynebacterium spp</i>	++++			<i>Corynebacterium</i>	+++				
		<i>Aerococcus viridans</i>	+++							<i>Bacillus</i>	++				
		<i>Kocuria palustris</i>	+							<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Aerococcus viridans</i>	++
										<i>Promieniowce</i>	+				
25b	6616	<i>Corynebacterium spp</i>	++			<i>Corynebacterium spp</i>	++++	pleśń	++	<i>Corynebacterium</i>	+++				

		<i>Micrococcus luteus</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	++++			<i>Bacillus</i>	++		
		<i>Micrococcus roseus</i>	+			<i>Lactococcus garvieae</i>	++						
25b	7640	<i>Corynebacterium spp</i>	++			<i>Corynebacterium spp</i>	++			<i>Corynebacterium</i>	+++		
		<i>Micrococcus luteus</i>	++							<i>Bacillus</i>	+++		
		<i>Aerococcus viridans</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++		
										<i>Brevibacterium senegalense</i>	++		
										<i>Promieniowce</i>	+		
25b	6113	<i>Corynebacterium spp</i>	+++							<i>Corynebacterium</i>	++		
		<i>Micrococcus roseus</i>	++							<i>Bacillus</i>	++		
		<i>Kocuria palustris</i>	++							<i>Aerococcus viridans</i>	++		

Ocena nasilenia wzrostu:

+ 1-5 CFU/płytkę (wzrost skąpy)

++ 5-50 CFU/płytkę (wzrost mierny)

+++ 50-100 CFU/płytkę (wzrost średnio obfity)

++++ >300 CFU/płytkę niepoliczalne (wzrost obfity)

Tabela 19

Badania mikrobiologiczne strzyków (wymaz) w kierunku gronkowców oraz pałeczek Gram ujemnych przed oraz w trakcie stosowania preparatu 26a – Chorzelów

preparat	numer krowy	Przed dippingiem				W 10 dniu dippingu				W 23 dniu dippingu			
		gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu
26a	575			<i>Pseudomonas spp</i>	+			<i>Escherichia coli</i>	+	<i>Staphylococcus sciuri</i>	++	<i>Pseudomonas spp.</i>	+
				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+					<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	+		
26a	7587												
26a	9346	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+					<i>Escherichia coli</i>	+++				
26a	813									<i>Staphylococcus sciuri</i>	++	<i>Escherichia coli</i>	++
26a	1077												
26a	1105	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++	<i>Escherichia coli</i>	++								
		<i>Staphylococcus sciuri</i>	++										
26a	1902							<i>Escherichia coli</i>	+				
26a	1917			<i>Pseudomonas spp</i>	+			<i>Escherichia coli</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++		
26a	6613									<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++		

Ocena nasilenia wzrostu:

+ 1-5 CFU/płytkę (wzrost skąpy)

++ 5-50 CFU/płytkę (wzrost mierny)

+++ 50-100 CFU/płytkę (wzrost średnio obfity)

++++ >300 CFU/płytkę niepoliczalne (wzrost obfity)

Tabela 20

Badania mikrobiologiczne strzyków (wymaz) w kierunku innych drobnoustrojów oraz grzybów i pleśni przed oraz w trakcie stosowania preparatu 26a – Chorzelów

Preparat	Numer krowy	Przed dippingiem				W 10 dniu dippingu				W 23 dniu dippingu			
		inne	Nasilenie wzrostu	Grzyby/pleśnie	Nasilenie wzrostu	inne	Nasilenie wzrostu	Grzyby/pleśnie	Nasilenie wzrostu	inne	Nasilenie wzrostu	Grzyby/pleśnie	Nasilenie wzrostu
26a	7587	<i>Corynebacterium spp</i>	+++	Pleśń	+	<i>Corynebacterium spp</i>	+++	<i>Candida</i>	+				
		<i>Micrococcus luteus</i>	++				+						
		<i>Kocuria palustris</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	++	pleśń					
		<i>Aerococcus viridans</i>	+										
		promieniowce	+										
26a	9346	<i>Corynebacterium spp</i>	++++	<i>Candida</i>	++	<i>Corynebacterium spp</i>	+++	<i>Candida</i>	++				
		<i>Aerococcus viridans</i>	++	Pleśń	++	<i>Aerococcus viridans</i>	+						
		promieniowce	++										
26a	575	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	Pleśń	++	<i>Corynebacterium spp</i>	++++	<i>Candida</i>	++				
		<i>Micrococcus spp</i>	++										
		<i>Aerococcus viridans</i>	++			<i>Bacillus</i>	++	Pleśń	+				
		promieniowce	++			<i>Micrococcus</i>	++						
26a	813	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	Pleśń	++	<i>Corynebacterium spp</i>	++++	<i>Candida</i>	+				
		<i>Micrococcus spp</i>	+++										
						<i>Aerococcus viridans</i>	+++	Pleśń	++				
26a	1077	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	Pleśń	++	<i>Corynebacterium spp</i>	++++	pleśń	++				
		<i>Micrococcus luteus</i>	++										
		<i>Micrococcus roseus</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	++						
			++			<i>Bacillus</i>	++						
		promieniowce	++			promieniowce	+						
26a	1105	<i>Corynebacterium spp.</i>	+++	pleśń	++					<i>Corynebacterium</i>	++++	pleśń	+
										<i>Bacillus</i>	++		
										promieniowce	++		
		<i>Kocuria palustris</i>	++							<i>Aerococcus viridans</i>	++		
26a	1902	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	Pleśń	++	<i>Corynebacterium spp</i>	++++			<i>Corynebacterium</i>	++		
		<i>Kocuria palustris</i>	++										
			++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Bacillus</i>	++		
		promieniowce	++							promieniowce	+		
26a	1917	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	pleśń	+	<i>Corynebacterium spp</i>	++++	<i>Candida</i>	+	<i>Corynebacterium</i>	+++		
						<i>Aerococcus viridans</i>	++++			<i>Bacillus</i>	++		
						<i>Bacillus</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	++		
		<i>Aerococcus viridans</i>	++			<i>Lactococcus garvieae</i>	++			promieniowce	++		
26a	6616	<i>Corynebacterium spp</i>	+++	Pleśń	++					<i>Corynebacterium</i>	++		
										<i>Bacillus</i>	++		
										<i>Aerococcus viridans</i>	++		

Tabela 21

Badania mikrobiologiczne mleka w kierunku gronkowców oraz pałeczek Gram ujemnych przed oraz w trakcie stosowania preparatu 26a– Chorzeliów.

Preparat	Numer krowy	Przed dippingiem				W 10 dniu dippingu				W 23 dniu dippingu			
		Gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	Gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	Gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu
26a	575			<i>Pseudomonas spp</i>	+					<i>Staphylococcus sciuri</i>	++	<i>Pseudomonas spp.</i>	+
				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+					<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	+		
26a	813							<i>Stenotrophomonas</i>	+	<i>Staphylococcus sciuri</i>	++	<i>Escherichia coli</i>	++
26a	1077					<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+	<i>Stenotrophomonas</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+++	<i>Acinetobacter spp.</i>	+
										<i>Staphylococcus xylosum</i>	+		
26a	1105	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++	<i>Escherichia coli</i>	++	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>	+	<i>Morganella</i>	+			<i>Escherichia coli</i>	+
		<i>Staphylococcus sciuri</i>	++										
26a	1902											<i>Acinetobacter spp.</i>	+
26a	1917			<i>Escherichia coli</i>	+			<i>Escherichia coli</i>	++				
						<i>Stenotrophomonas</i>	+						
26a	6613									<i>Staphylococcus sciuri</i>	++	<i>Pseudomonas spp</i>	++
										<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++	<i>Acinetobacter spp</i>	++
26a	7587							<i>Escherichia coli</i>	+	<i>Staphylococcus sciuri</i>	++	<i>Acinetobacter spp</i>	+
								<i>Stenotrophomonas</i>	+	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++		
								<i>Morganella</i>	+				
26a	9346	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+					<i>Escherichia coli</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+++	<i>Acinetobacter spp</i>	++

Tabela 22

Badania mikrobiologiczne mleka w kierunku innych drobnoustrojów oraz grzybów i pleśni przed oraz w trakcie stosowania preparatu 26a – Chorzelów

preparat	Numer krowy	Przed dippingiem				W 10 dniu dippingu				W 23 dniu dippingu			
		Inne drobnoustroje	Nasilenie wzrostu	Grzyby i pleśnie	Nasilenie wzrostu	Inne drobnoustroje	Nasilenie wzrostu	Grzyby i pleśnie	Nasilenie wzrostu	Inne drobnoustroje	Nasilenie wzrostu	Grzyby i pleśnie	Nasilenie wzrostu
26a	7587	<i>Corynebacterium spp</i>	++++			<i>Corynebacterium spp</i>	+++			<i>Corynebacterium</i>	++		
		<i>Kocuria palustris</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Bacillus</i>	++		
		<i>Aerococcus viridans</i>	++			<i>Corynebacterium spp</i>	+++			<i>Promieniowce</i>	+		
		<i>Micrococcus luteus</i>	+										
26a	9346	<i>Corynebacterium spp</i>	++			<i>Corynebacterium spp</i>	++++			<i>Corynebacterium</i>	+++		
		<i>Micrococcus luteus</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Bacillus</i>	++		
		<i>Aerococcus viridans</i>	+							<i>Aerococcus viridans</i>	+++		
26a	575	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++							<i>Corynebacterium</i>	+++		
		<i>Micrococcus spp</i>	+							<i>Bacillus</i>	++		
		<i>Aerococcus viridans</i>	+							<i>Micrococcus luteus</i>	+++		
		<i>Micrococcus roseus</i>	++										
26a	813	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++			<i>Lactococcus garvieae</i>	++++			<i>Corynebacterium</i>	+++		
		<i>Aerococcus viridans</i>	+			<i>Corynebacterium spp</i>	+++			<i>Bacillus</i>	++		
						<i>Micrococcus</i>	++			<i>Aerococcus viridans</i>	+++		
										<i>Brevibacterium senegalense</i>	++		
26a	1077	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	pleśń	+	<i>Corynebacterium spp</i>	++++			<i>Corynebacterium</i>	++		
		<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Aerococcus viridans</i>	++						
						<i>Bacillus</i>	+						
26a	1105	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++			<i>Corynebacterium spp</i>	+++			<i>Corynebacterium</i>	++		
							++			<i>Bacillus</i>	+		

					<i>Aerococcus viridans</i>				<i>Aerococcus viridans</i>	++	
26a	1902	<i>Corynebacterium spp.</i>	+++		<i>Corynebacterium spp.</i>	++++			<i>Corynebacterium</i>	++++	
		<i>Aerococcus viridans</i>	++		<i>Aerococcus viridans</i>	++			<i>Bacillus</i>	++	
		<i>Kocuria palustris</i>	++						<i>Aerococcus viridans</i>	+++	
26a	1917	<i>Corynebacterium spp.</i>	++++		<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	<i>Candida</i>	+	<i>Corynebacterium</i>	+++	
		<i>Micrococcus roseus</i>	++		<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Bacillus</i>	++	
						<i>Lactococcus garvieae</i>	++	pleśń	+	<i>Promieniowce</i>	++
26a	6613	<i>Corynebacterium spp.</i>	++		<i>Corynebacterium spp.</i>	++++	<i>Candida</i>	+	<i>Corynebacterium</i>	+++	
		<i>Micrococcus luteus</i>	++		<i>Aerococcus viridans</i>	+++			<i>Bacillus</i>	++	
		<i>Micrococcus roseus</i>	+								

Ocena nasilenia wzrostu:

+ 1-5 CFU/płytkę (wzrost skąpy)

++ 5-50 CFU/płytkę (wzrost mierny)

+++ 50-100 CFU/płytkę (wzrost średnio obfity)

++++ >300 CFU/płytkę niepoliczalne (wzrost obfity)

Pierwsze 5 dni przed zastosowaniem preparatów w obu grupach krów prowadzono codziennie analizy jakości mleka i zdrowotności wymienia w ujęciu ćwiartkowym przy pomocy aparatu Dramińskiego do badania poziomu oporności elektrycznej w ćwiartkach wymienia (tabela 23). W tym celu podczas rannego doju dokonywano odczytu. Po zastosowaniu preparatów w poszczególnych grupach w ciągu 24 godzin dokonano dodatkowego odczytu. Następnie co dwa dni dokonywano odczytu do 10 dnia po zastosowaniu oraz 23 dnia włącznie. Wyniki zaprezentowano w tabelach 14-17 w rozbiciu na poszczególne ćwiartki wymienia. Przednie ćwiartki wymienia, zarówno prawa jak i lewa, przez cały okres badawczy nie były poddane działaniu analizowanych preparatów ani innych, stanowiąc materiał porównawczy dla dippingowanych preparatami tylnych ćwiartek wymienia. Średni poziom oporności elektrycznej mleka w chwili rozpoczęcia doświadczenia dla przednich lewych ćwiartek kształtował się na poziomie od 434 do 460 jednostek. W grupie z preparatem 25b, poziom oporności elektrycznej mleka był wyższy niż w grupie z preparatem 26 i wynosił średnio 460 jednostek, a dla grupy z preparatem 26a – 434,81. W trakcie kolejnych 10 dni pomiarów u krów ich badana ćwiartka wymienia (LP w grupie 25b) nadal produkowała mleko o podwyższonym parametrze oporności elektrycznej – było to 456,32, podczas gdy dla grupy z preparatem 26a stwierdzono spadek tego parametru – do poziomu 426,67. W 23 dniu badań w obydwu grupach doświadczalnych nastąpił wyraźny spadek oporności elektrycznej mleka do wartości 412,30 (grupa z preparatem 25b) oraz 402,89 (grupa z preparatem 26a). W grupie 26a średni poziom jednostek oporności elektrycznej mleka we wszystkich okresach był niższy niż w grupie z preparatem 25b. Podkreślić należy fakt, iż u żadnej krowy w trakcie badań nie stwierdzono spadku poziomu oporności elektrycznej mleka poniżej 250 jednostek, co wskazywałoby na ostry stan zapalny w obrębie lewej przedniej ćwiartki wymienia.

W przypadku badań przedniej prawej ćwiartki u krów z poszczególnych grup badawczych, gdzie także nie stosowano żadnych preparatów dippingowych stwierdzono, że krowy w grupie z preparatem 26a odznaczały się w niższym poziomie oporności elektrycznej mleka w badanych okresach względem 25b (tabela 24). W grupie z preparatem 25b przed okresem stosowania dippingu wszystkie 11 sztuk charakteryzował dość wysoki poziom oporności elektrycznej mleka w badanej ćwiartce - 467,88, natomiast w grupie 26a wskaźnik ten był na niższym poziomie i wynosił średnio dla grupy 447,78. W kolejnej próbie (24 godziny po zastosowaniu preparatów na ćwiartki tylne) w grupie z preparatem 25b oporność elektryczna mleka z przedniej prawej ćwiartki wzrosła dla całej grupy, natomiast u zwierząt z grupy 26a – nieznacznie spadła. W kolejnym okresie badawczym tj. po 10 dniach średni poziom oporności elektrycznej mleka nadal był dość wysoki u wszystkich krów w grupie 25b, natomiast w grupie z preparatem 26a uległ kolejnemu obniżeniu. Kolejne 13 dni stosowania dippingu na tylne ćwiartki (23 dzień) skutkowało wyraźnym spadkiem jednostek oporności elektrycznej mleka u obydwu grup doświadczalnych.

W przypadku tylnych ćwiartek, gdzie zastosowano preparaty 25b lub 26a w danej grupie stwierdzono wyraźny wpływ jego na poziom oporności elektrycznej mleka w badanych ćwiartkach (tabela 25). Przed doświadczeniem w grupie z preparatem 25b lewe tylne ćwiartki produkowały mleko o oporności na poziomie 420 jednostek, natomiast w grupie z preparatem 26a było to 399 jednostek. Po 24 od zastosowania stwierdzono w obu grupach nieznaczny spadek poziomu oporności elektrycznej, jednak pierwsza grupa nadal produkowała mleko o wyższym jego wskaźniku niż grupa druga (26a). W 10 dniu stosowania dippingu w obu grupach obserwujemy nadal tendencję spadkową jednostek oporności elektrycznej w mleku, przy czym wolniejszy jest on w grupie pierwszej. Po 23 dniach stosowania dippingu stwierdzono, że preparat 26a zdecydowanie obniżył poziom omawianego parametru fizycznego w badanych lewych tylnych ćwiartkach wymienia utrzymując tym samym mleko w normie, natomiast w grupie z preparatem 25b, spadek poziomu oporności mleka nadal utrzymywał się lekko ponad 415. W obu przypadkach preparat nie spowodował spadku poziomu oporności elektrycznej do dopuszczalnej wartości 250-300 jednostek a raczej stabilizował jego dalszy wzrost na poziomie wejściowym.

Tabela 23

Średni poziom oporności elektrycznej mleka wg. pomiarów aparatem Dramińskiego - Chorzelów

Numer krowy	preparat	Ćwiartka wymienia	Średnie wartości za dany okres			
			przed dippingiem	24 godziny po dippingu	w 10 dniu dippingu	w 23 dniu dippingu
7640	25b	LP	480,00	490	480,00	388,00
1050	25b	LP	556,67	510	484,00	434,00
1019	25b	LP	490,00	490	474,00	426,00
6113	25b	LP	426,67	390	414,00	370,00
1882	25b	LP	483,33	480	466,00	464,00
852	25b	LP	440,00	430	468,00	413,33
6579	25b	LP	480,00	530	476,00	462,00
6616	25b	LP	450,00	460	458,00	446,00
6603	25b	LP	410,00	440	422,00	402,00
6111	25b	LP	473,33	530	537,50	390,00
6572	25b	LP	370,00	340	340,00	340,00
średnia			460,00	462,73	456,32	412,30
sd			48,97	59,18	50,35	38,92
7587	26a	LP	393,33	360	380,00	342,00
9346	26a	LP	393,33	350	352,00	408,00
575	26a	LP	426,67	410	420,00	342,00
1105	26a	LP	433,33	380	435,00	416,00
1077	26a	LP	403,33	420	436,00	390,00
813	26a	LP	446,67	430	417,40	406,00
1902	26a	LP	440,00	440	428,00	410,00
6613	26a	LP	426,67	500	474,00	474,00
1917	26a	LP	550,00	550	470,00	438,00
średnia			434,81	426,67	423,60	402,89
sd			47,44	64,81	38,85	42,03

Tabela 24

Średni poziom oporności elektrycznej mleka wg. pomiarów aparatem Dramińskiego - Chorzelów

Numer krowy	preparat	Ćwiartka wymienia	Średnie wartości za dany okres			
			przed dippingiem	24 godziny po dippingu	w 10 dniu dippingu	w 23 dniu dippingu
7640	25b	PP	506,67	530,00	492,00	410,00
1050	25b	PP	560,00	550,00	524,00	480,00
1019	25b	PP	533,33	470,00	512,00	403,80
6113	25b	PP	460,00	360,00	436,00	374,00
1882	25b	PP	450,00	510,00	482,00	434,00
852	25b	PP	453,33	520,00	494,00	443,33
6579	25b	PP	443,33	460,00	456,00	444,00
6616	25b	PP	420,00	470,00	484,00	412,00
6603	25b	PP	423,33	480,00	448,00	410,00
6572	25b	PP	413,33	430,00	430,00	430,00
6111	25b	PP	483,33	530,00	530,00	520,00
średnia			467,88	482,73	480,73	432,83
sd			47,92	54,61	34,42	39,81
7587	26a	PP	406,67	410,00	404,00	372,00
9346	26a	PP	413,33	410,00	394,00	380,00
575	26a	PP	420,00	440,00	422,00	362,00
1105	26a	PP	463,33	460,00	452,00	402,00
1077	26a	PP	376,67	300,00	384,00	340,00
813	26a	PP	466,67	470,00	448,00	396,00
1902	26a	PP	490,00	450,00	438,00	322,00
6613	26a	PP	460,00	520,00	482,00	420,00
1917	26a	PP	533,33	550,00	496,00	438,00
średnia			447,78	445,56	435,56	381,33
sd			48,16	71,61	38,42	37,15

Tabela 25

Średni poziom oporności elektrycznej mleka wg. pomiarów aparatem Dramińskiego - Chorzelów

Numer krowy	preparat	Ćwiartka wymienia	Średnie wartości za dany okres			
			przed dippingiem	24 godziny po dippingu	w 10 dniu dippingu	w 23 dniu dippingu
7640	25b	LT	410,00	400	408,00	406,00
1050	25b	LT	453,33	450	408,00	437,11
1019	25b	LT	400,00	420	424,00	414,67
6113	25b	LT	353,33	340	360,00	351,11
1882	25b	LT	453,33	410	436,00	433,11
852	25b	LT	443,33	440	422,00	435,11
6579	25b	LT	453,33	520	464,00	479,11
6616	25b	LT	443,33	400	418,00	420,44
6603	25b	LT	386,67	400	394,00	393,56
6572	25b	LT	393,33	370	370,00	370,00
6111	25b	LT	440,00	430	410,00	426,67
średnia			420,91	416,36	410,36	415,17
sd			34,03	46,32	28,91	34,85
7587	26a	LT	396,67	390	400,00	395,56
9346	26a	LT	453,33	480	432,00	455,11
575	26a	LT	413,33	370	414,00	399,11
1105	26a	LT	416,67	420	427,50	421,39
1077	26a	LT	356,67	350	390,00	365,56
813	26a	LT	390,00	390	380,00	386,67
1902	26a	LT	400,00	370	380,00	383,33
6613	26a	LT	263,33	340	294,00	312,00
1917	26a	LT	520,00	460	430,00	442,00
średnia			399,39	397,27	388,32	393,62
sd			84,52	50,61	50,64	54,13

Analiza prawych tylnych ćwiartek wymion krów poddanych preparatom 25b i 26a wykazała, że oba, podobnie jak dla lewej strony wymienia stabilizują poziom oporności elektrycznej mleka, nie powodując jego dalszego wzrostu w miarę rozwoju laktacji (tabela 26). Po dobie stosowania preparatu w obydwu grupach poziom oporności elektrycznej mleka wzrósł do średniej wartości 433,64 dla grupy z preparatem 25b, w drugiej – do 430,00 jednostek. Po 10 dniach stosowania preparatu odnotowano w pierwszej grupie (25b) dalszy wzrost wartości średniej jednostek oporności elektrycznej dla mleka, tak w drugiej grupie (26a) średni jej poziom dla grupy wyraźnie się obniżył do 420 jednostek. Kolejne 13 dni stosowania preparatu spowodowało w obu grupach spadek średniej wartości oporności elektrycznej względem poprzednich okresów badawczych. Tym samym stosowany preparat nie spowodował w obu grupach wzrostu ani też obniżenia poziomu oporności elektrycznej mleka poniżej zalecanej dolnej granicy 250-300 jednostek. Podobnie jak dla ćwiartki lewej tylnej omawiany preparat 26a wyraźnie wpłynął na zdrowotność wymion i stabilizację poziomu oporności elektrycznej w mleku.

Tabela 26

Średni poziom oporności elektrycznej mleka wg. pomiarów aparatem Dramińskiego - Chorzelów

Numer krowy	preparat	Ćwiartka wymienia	Średnie wartości za dany okres			
			przed dippingiem	24 godziny po dippingu	w 10 dniu dippingu	w 23 dniu dippingu
7640	25b	PT	406,67	410	404,00	372,00
1050	25b	PT	423,33	550	460,00	436,00
1019	25b	PT	450,00	450	464,00	442,00
6113	25b	PT	403,33	350	390,00	386,00
1882	25b	PT	413,33	430	452,00	408,00
852	25b	PT	393,33	410	414,00	360,00
6579	25b	PT	416,67	440	492,00	444,00
6616	25b	PT	426,67	460	416,00	400,00
6603	25b	PT	426,67	420	412,00	398,00
6572	25b	PT	370,00	450	450,00	450,00
6111	25b	PT	473,33	400	445,00	515,00
średnia			418,48	433,64	436,27	419,18
sd			27,46	49,25	31,03	43,96
7587	26a	PT	406,67	490	470,00	432,00
9346	26a	PT	443,33	490	438,00	410,00
575	26a	PT	406,67	370	396,00	380,00
1105	26a	PT	466,67	520	452,50	416,00
1077	26a	PT	390,00	340	384,00	368,00
813	26a	PT	383,33	380	388,00	382,00
1902	26a	PT	413,33	360	390,00	394,00
6613	26a	PT	463,33	440	426,00	408,00
1917	26a	PT	453,33	480	438,00	416,00
średnia			425,19	430,00	420,28	400,67
sd			31,85	68,01	31,69	20,86

2.8. Badania terenowe – BiałyBór- gospodarstw I

Ponieważ w badaniach wstępnych na grupie 20 sztuk stwierdzono, wyraźnie lepszy wpływ dippingu preparatem 26a na zdrowotność wymion wyrażony poziomem komórek somatycznych-lks, wybrano go do testowania w terenie w wybranych gospodarstwach ekologicznych.

Tabela 27 przedstawia wyniki badań poziomu komórek somatycznych oraz komórek systemu odpornościowego z rozróżnieniem na ich typy, w mleku krów z gospodarstwa ekologicznego w Białym Borze, przed oraz po zastosowaniu preparatu do dippingu. Badaniami objęte były 23 sztuki krów mlecznych rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej znajdujące się w laktacjach od II do V. Na podstawie przeprowadzonych badań – prób ćwiartkowych z pozyskanego mleka stwierdza się dużą zmienność pomiędzy poszczególnymi zwierzętami w stadzie w zakresie poziomu komórek somatycznych oraz komórek układu odpornościowego obecnych w analizowanym mleku. Średnia liczba komórek somatycznych (lks) w mleku wytypowanych krów w analizowanym stadzie, przed rozpoczęciem stosowania preparatu dippingowego, wynosiła 154 391,00 przy odchyleniu standardowym na poziomie 197 952,41. Przed dippingiem liczba krów, u których poziom lks

mieścił się poniżej 100 tys. wynosiła 13 sztuk, u 8 krów lks znajdowała się w przedziale pomiędzy 100 a 400 tys. i tylko u dwóch sztuk lks przekraczała górną dopuszczalną normę 400 tys. Po 37 dniach stosowania ziołowego preparatu do dippingu strzyków przeciętna liczba komórek somatycznych w mleku w stadzie spadła do wartości 137 869,57. U 14 krów zaobserwowano obniżenie liczby komórek somatycznych w mleku, w tym u 9 sztuk był to spadek znaczny (o ponad połowę wartości wyjściowych). U jednej sztuki parametry odpowiedzi komórkowej w mleku nie uległy zmianie, zaś u 8 krów stwierdzono wzrost ilości ks w mleku, w tym u jednej był to wyraźny wzrost (z 359 tys. do 1 mln 043 tys.). Liczba limfocytów w mleku przed rozpoczęciem badań mieściła się w przedziale od 1600 do 130 450, przy średniej dla grupy doświadczalnej na poziomie 23 956,52 i wartości odchylenia standardowego 30 178,45. Podobnie jak w przypadku poziomu komórek somatycznych, po zakończeniu badań liczba limfocytów w próbach ćwiartkowych w badanym stadzie uległa obniżeniu do wartości 19 745,22. Spadek ten stwierdzono u 14 sztuk w tym u 9 zwierząt była to znaczna reakcja ze strony układu odpornościowego, u jednej krowy nie zaobserwowano zmian w poziomie tego parametru odpornościowego oraz u 8 zwierząt nastąpił wzrost ilości limfocytów. Pod względem liczby granulocytów w mleku reakcja ze strony układu immunologicznego poszczególnych krów po zakończonych badaniach była jeszcze wyraźniejsza. Przed dippingiem średnia dla grupy wynosiła 30 591,52, zaś ich zakres liczbowy mieścił się w granicy od 205,00 do 242 760,00, natomiast po zakończonym doświadczeniu ilość granulocytów obniżyła się do przeciętnej wartości 28 204,78 osiągając przedział 205,00 - 292 040,00. Po zastosowanym dippingu granulocyty obniżyły się u 14 sztuk, w tym u 7 krów spadek ten był bardzo wyraźny (np. z 33 480,00 do 40,00, z 39 960,00 do 1 640,00). Podobnie jak poprzednio, jedna krowa nie zareagowała na zastosowany preparat, a u 8 sztuk stwierdzono zwiększenie ilości tego typu komórek odpornościowych w badanym mleku. Również dla makrofażów stwierdzono taką samą tendencję – ich poziom w grupie doświadczalnej po zakończonym dippingu uległ obniżeniu ze średniej wartości 67 753,91 do 55 836,82, spadek ich poziomu zaobserwowano u 14 sztuk, brak reakcji u jednej sztuki oraz wzrost u 8 krów. Jedynie w odniesieniu do komórek nabłonkowych wyścielających przewód strzykowy w przeprowadzonych badaniach stwierdzono odwrotną zależność – ich poziom po zakończonym doświadczeniu uległ zwiększeniu ze średniej wartości 32 133,41 do 36 783,48. Wynikało to ze znacznego wzrostu ich liczby u 8 sztuk.

Badania wymazów pochodzących ze strzyków krów w gospodstwie II – Biały Bór (tabela 28) w kierunku gronkowców (koagulazo ujemne) oraz pałeczek gram ujemnych wykazała u wszystkich krów wrosty od miernych do średnio obfitych. Zakażenia wymienia wywoływane przez gronkowce koagulazo-ujemne mają przeważnie charakter subkliniczny, jednak wzrost liczby komórek somatycznych w mleku podczas zakażenia jest porównywalny ze wzrostem w zakażeniach wywołanych przez gronkowca złocistego. W badaniach wyodrębniono najczęściej wywołujące *mastitis* takie gatunki, jak: *S. xylosum*, *S. sciuri*. Zapalenia wymienia, w których czynnikiem etiologicznym są gronkowce koagulazo-ujemne, cechuje przewlekłość przebiegu. Niepowodzenia w leczeniu wynikają m.in. z wielolekooporności często obserwowanej wśród izolatów *Staphylococcus spp.* Po zastosowaniu dippingu preparatem 26a wykazano u 7 krów spadek stopnia wzrostu gronkowców do poziomu oceny wzrostu jako skąpy lub mierny. Dodatkowo nastąpił niemal całkowity zanik pałeczek Gram ujemnych u badanych krów. Na 9 sztuk tylko u jednej stwierdzono ich obecność na poziomie wzrostu miernego. Tym samym zastosowanie preparatu zdecydowanie poprawiło stan zdrowotny strzyków i ograniczyło rozwój patogenów.

Analizy obecności innych patogenów oraz grzybów i pleśni wykazały istotne zmiany w stopniu rozwoju tych drugich z poziomu co najmniej średnio obfitego do rozwoju skąpego (tabela 29). Tym samym preparat przyczynił się do zahamowania ich rozwoju.

Na 9 badanych krów pod kątem jakości mikrobiologicznej ich mleka stwierdzono w 7 próbach obecność gronkowców wywołujących *mastitis* u bydła mlecznego (tabela 30). Stopień ich rozwoju był od miernego w 4 badanych próbach do nawet wzrostu obfitego także dla 4 prób i tyłu samo szczepów. W jednej próbie odnotowano obecność *Staphylococcus aureus* na poziomie wzrostu miernego. Po zastosowaniu preparatu 26a do dippingu bydła odnotowano pośrednio zmiany w rodzaju występujących gronkowców i ich poziomie rozwoju w mleku. Nie odnotowano obecności gronkowca złocistego u żadnej krowy, jak również siła wzrostu gronkowców została obniżona o jeden poziom u 3 sztuk, utrzymana na tym samym poziomie miernym lub średnio obfitym u 4 sztuk oraz u jednej sztuki stwierdzono pojawienie się wcześniej nie odnotowywanych gronkowców. Poziom Pałeczek Gram ujemnych przed jak i po zastosowaniu preparatu był bardzo rzadko stwierdzany (2 sztuki).

W trakcie badań nie stwierdzono w żadnej próbie mleka obecności pleśni oraz grzybów zarówno przed jak i po zastosowaniu dippingu (tabela 31). Stwierdzone patogeny zakaźne, tj. powszechne *Corynebacterium bovis*, mają zdolność do przetrwania w gruczole mlekowym i mogą powodować zapalenie, które zazwyczaj objawia się wzrostem liczby komórek somatycznych w mleku z zakażonych ćwiartek. W badaniach stwierdzono, że u jednej sztuki nastąpił spadek stopnia rozwoju, natomiast u kolejnej pozostał na stałym poziomie. Odnotowano także trzy nowe próby posiadające *Corynebacterium*.

Tabela 27

Badania poziomu komórek somatycznych w mleku krów przed i po zastosowaniu preparatu 26a – Biały Bór

Wyniki analiz mleka przed zastosowaniem dippingu						n	Wyniki analiz mleka po zastosowaniu dippingu					
numer	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.		numer	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.
N 0539	359 000	61 030	71 800	122 060	104 110	1	N2 0539	1 043 000	125 160	292 040	187 740	438 060
N 0630	222 000	33 300	39 960	104 340	44 400	2	N2 0630	82 000	13 120	1 640	65 600	1 640
N 0636	38 000	6 080	755	30 400	765	3	N2 0636	11 000	1760	220	8 800	220
N 1367	186 000	27 900	33 480	87 420	37 200	4	N2 1367	2 000	320	40	1 600	40
N 1713	25 000	4 000	495	20 000	505	5	N2 1713	8 000	1 280	185	6 400	175
N 1719	60 000	9 600	1 205	48 000	1 195	6	N2 1719	54 000	8 640	1 080	43 200	1 080
N 1730	225 000	33 750	40 500	105 750	45 000	7	N2 1730	38 000	6 080	755	30 400	765
N 2922	170 000	25 500	30 600	79 900	34 000	8	N2 2922	34 000	5 440	675	27 200	685
N 2953	93 000	14 880	1 865	74 400	1 855	9	N2 2953	202 000	30 300	36 360	94 940	40 400
N 4410	867 000	130 450	242 760	277 440	216 750	10	N2 4410	133 000	19 950	23 940	62 510	26 600
N 4417	32 000	5 120	635	25 600	645	11	N2 4417	99 000	15 840	44 700	79 200	44 700
N 4420	72 000	11 520	1 445	57 600	1 435	12	N2 4420	56 000	8 960	1 115	44 800	1 125
N 5542	43 000	6 880	865	34 400	855	13	N2 5542	41 000	6 560	820	32 800	820
N 6972	18 000	2 880	355	14 400	365	14	N2 6972	154 000	23 100	27 720	72 380	30 800
N 7050	10 000	1 600	205	8 000	195	15	N2 7050	10 000	1 600	205	8 000	195
N 7051	128 000	19 200	23 040	60 160	25 600	16	N2 7051	185 000	27 750	33 300	86 950	37 000
N 7884	59 000	9 440	1 185	47 200	1 175	17	N2 7884	24 000	3 840	475	19 200	485
N 8493	484 000	72 600	135 520	154 880	121 000	18	N2 8493	151 000	22 650	27 180	70 970	30 200
N 8500	21 000	3 360	1 675	16 800	1 685	19	N2 8500	147 000	22 050	26 460	69 090	29 400
N 8502	22 000	3 520	435	17 600	445	20	N2 8502	5 000	800	100	4 000	100
N 8518	36 000	5 760	725	28 800	715	21	N2 8518	202 000	30 300	36 360	94 940	40 400
N 8523	105 000	15 750	18 900	49 350	21 000	22	N2 8523	233 000	34 950	41 940	109 510	46 600
N 8551	276 000	46 920	55 200	93 840	80 040	23	N2 8551	257 000	43 690	51 400	87 380	74 530
średnia	154 391,30	23 958,26	30 591,52	67 753,91	32 133,41		średnia	137 869,57	19 745,22	28 204,78	55 836,82	36 783,48
sd	197 952,41	30 177,57	56 477,06	60 103,39	54 616,06		sd	213 243,20	26 177,44	60 275,96	44 888,02	90 094,52

Tabela 28

Badania mikrobiologiczne strzyków (wymaz) w kierunku gronkowców oraz pałeczek Gram ujemnych przed oraz po zastosowaniu preparatu 26a – Biały Bór.

numer krowy	Przed zastosowaniem dippingu				Po zastosowaniu dippingu			
	gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu
630	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++	<i>Acinetobacter spp</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+		
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	++			<i>Staphylococcus aureus</i>	++		
636	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++++	<i>Acinetobacter spp</i>	++	<i>Staphylococcus sciuri</i>	+	<i>Acinetobacter spp.</i>	++
1367	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++	<i>Acinetobacter spp</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++		
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	+			<i>Staphylococcus hominis</i>	+		
					<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	+		
1730	<i>Staphylococcus xylosus</i>	+++	<i>Pseudomonas spp</i>	+++	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++		
2953	<i>Staphylococcus sciuri</i>	+++	<i>Acinetobacter spp</i>	++	<i>Staphylococcus sciuri</i>	++		
			<i>Enterobacter spp</i>	++				
4417	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++++	<i>Acinetobacter spp</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i> <i>Staphylococcus sciuri</i>	+		
7050	<i>Staphylococcus sciuri</i>	++	<i>Acinetobacter spp</i>	++	<i>Staphylococcus sciuri</i>	+		
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++				+		
7884	<i>Staphylococcus xylosus</i>	+++	<i>Acinetobacter spp</i>	++	<i>Staphylococcus hominis</i>	+		
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	++			<i>Staphylococcus sciuri</i>	++		
8551			<i>Acinetobacter spp</i>	+				

Tabela 29

Badania mikrobiologiczne strzyków (wymaz) w kierunku gronkowców oraz pałeczek Gram ujemnych przed oraz po zastosowaniu preparatu 26a – Biały Bór

numer krowy	Przed zastosowaniem dippingu				Po zastosowaniu dippingu			
	inne	Nasilenie wzrostu	Grzyby/pleśń	Nasilenie wzrostu	inne	Nasilenie wzrostu	Grzyby/pleśń	Nasilenie wzrostu
630	<i>Corynebacterium</i>	++	<i>Pleśń</i>	++	<i>Corynebacterium</i> <i>Bacillus</i>	+++	<i>pleśń</i>	+
			<i>Candida</i>	+++	<i>Micrococcus</i>	++		
636	<i>Micrococcus</i>	++	<i>Pleśń</i>	++	<i>Corynebacterium</i>	+++	<i>pleśń</i>	+
			<i>Rhodotorula</i>	++	<i>Bacillus</i>	++		
			<i>Candida</i>	++	<i>Aerococcus viridans</i>	++		
1367	<i>Bacillus</i>	++	<i>Pleśń</i>	+	<i>Corynebacterium</i>	++	<i>pleśń</i>	+
	<i>Micrococcus</i>	+	<i>Candida</i>	++	<i>Bacillus</i>	++		
1730	<i>Bacillus</i>	++	<i>pleśń</i>	+	<i>Bacillus</i>	++	<i>pleśń</i>	++
					<i>Corynebacterium</i>	++		
					<i>Aerococcus viridana</i>	++		
2953	<i>Bacillus</i>	++	<i>Pleśń</i>	+	<i>Bacillus</i>	++	<i>pleśń</i>	+
					<i>Corynebacterium</i>	++		
	<i>Micrococcus</i>	++	<i>Candida</i>	++++	<i>Micrococcus</i>	++		
4417	<i>Bacillus</i>	++	<i>pleśń</i>	+	<i>Bacillus</i>	++	<i>pleśń</i>	++
					<i>Corynebacterium</i>	++		
					<i>Brevibacterium spp</i>	++		
7050	<i>Bacillus</i>	++	<i>Candida</i>	++	<i>Bacillus</i>	+	<i>pleśń</i>	+
					<i>Corynebacterium</i>	+		
7884	<i>Bacillus</i>	++	<i>Pleśń</i>	++	<i>Bacillus</i>	++	<i>pleśń</i>	+
					<i>Micrococcus</i>	++		
	<i>Corynebacterium spp</i>	++	<i>Candida</i>	+++	<i>Corynebacterium</i>	+		
8551	<i>Micrococcus</i>	+			<i>Bacillus</i>	++		
					<i>Corynebacterium</i>	++		
	<i>Bacillus</i>	+			<i>Lactococcus garvieae</i>	++		

Tabela 30

Badania mikrobiologiczne mleka w kierunku gronkowców oraz pałeczek Gram ujemnych przed oraz po stosowaniu preparatu 26a– Biały Bór

numer krowy	Przed zastosowaniem dippingu				Po zastosowaniu dippingu			
	gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu	gronkowce	Nasilenie wzrostu	Pałeczki G-	Nasilenie wzrostu
630	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++++			<i>Staphylococcus</i>	+		
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	++			<i>Staphylococcus aureus</i>	+		
1367	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++++			<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++		
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	+++						
	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+++						
1719	<i>Staphylococcus sciuri</i>	+++						
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++++						
1730					<i>Staphylococcus xylosus</i>	++	<i>Enterobacter spp</i>	+
					<i>Staphylococcus sciuri</i>	+		
2953					<i>Staphylococcus</i>	+++		
					<i>Staphylococcus sciuri</i>	+		
4417	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++++			<i>Staphylococcus xylosus</i>	+++		
	<i>Staphylococcus sciuri</i>	++			<i>Staphylococcus sciuri</i>	+++		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	++			<i>Staphylococcus chromogenes</i>	++		
7051	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++			<i>Staphylococcus sciuri</i>	++		
7884	<i>Staphylococcus sciuri</i>	+++	<i>Proteus spp</i>	+	<i>Staphylococcus</i>	+++	<i>Acinetobacter spp</i>	+
	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++	<i>Acinetobacter spp</i>	++	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+		
8551	<i>Staphylococcus xylosus</i>	++++			<i>Staphylococcus chromogenes</i>	+++		
					<i>Staphylococcus</i>	++		

Ocena nasilenia wzrostu:

+ 1-5 CFU/płytkę (wzrost skąpy)

++ 5-50 CFU/płytkę (wzrost mierny)

+++ 50-100 CFU/płytkę (wzrost średnio obfity)

++++ >300 CFU/płytkę niepoliczalne (wzrost obfity)

Tabela 31

Badania mikrobiologiczne mleka w kierunku innych drobnoustrojów oraz grzybów i pleśni przed oraz po stosowaniu preparatu 26a – Biały Bór

numer krowy	Przed zastosowaniem dippingu				Po zastosowaniu dippingu			
	inne	Nasilenie wzrostu	Grzyby/pleśnie	Nasilenie wzrostu	inne	Nasilenie wzrostu	Grzyby/pleśnie	Nasilenie wzrostu
630	<i>Corynebacterium</i>	+++			<i>Corynebacterium</i>	++		
					<i>Bacillus</i>	+		
					<i>Micrococcus</i>	+		
1367					<i>Aerococcus viridans</i>	+		
					<i>Bacillus</i>	+		
1719					<i>Micrococcus</i>	++		
					<i>Corynebacterium</i>	+		
					<i>Bacillus</i>	+		
1730	<i>Corynebacterium</i>	++			<i>Bacillus</i>	++		
					<i>Micrococcus</i>	++		
2953	<i>Lactococcus garvieae</i>	++++			<i>Lactococcus garvieae</i>	+++		
					<i>Bacillus</i>	+		
					<i>Corynebacterium</i>	+		
4417	<i>Bacillus</i>	+			<i>Corynebacterium</i>	+++		
	<i>Corynebacterium</i>	+++			<i>Bacillus</i>	+		
7051					<i>Bacillus</i>	+		
					<i>Corynebacterium</i>	+		
7884					<i>Corynebacterium</i>	++		
					<i>Bacillus</i>	++		
8551					<i>Micrococcus</i>	+	pleśń	+

Ocena nasilenia wzrostu:

+ 1-5 CFU/płytkę (wzrost skąpy)

++ 5-50 CFU/płytkę (wzrost mierny)

+++ 50-100 CFU/płytkę (wzrost średnio obfity)

++++ >300 CFU/płytkę niepoliczalne (wzrost obfity)

W tabeli 32 umieszczono wyniki badań oporności elektrycznej mleka z lewej przedniej ćwiartki gruczołu mlekowego krów z gospodarstwa w Białym Borze, przed oraz po okresie stosowania preparatu do dippingu strzyków. Przeciętna wartość oporności elektrycznej mleka z lewych przednich ćwiartek u krów przed rozpoczęciem badań wynosiła 437,83 jednostek, natomiast po okresie 37 dni stosowania kąpieli strzyków – 423,48, oporność ta więc uległa nieznacznemu zmniejszeniu, pomimo iż kąpieli poddawane były tylko tylne ćwiartki wymienia. Fakt ten świadczy o kompleksowym wpływie stosowanego preparatu na cały gruczoł mlekowy. Zmniejszenie oporności stwierdzono u 12 sztuk spośród 23 krów w grupie doświadczalnej.

Tabela 32

Średni poziom oporności elektrycznej mleka wg. pomiarów aparatem Dramińskiego – Biały Bór

preparat	numer krowy	ćwiartka wymienia	przed rozpoczęciem	po 37 dniach
26A	539	LP	370	350
26A	630	LP	450	380
26A	636	LP	480	390
26A	1367	LP	390	290
26A	1713	LP	420	420
26A	1719	LP	470	510
26A	1730	LP	390	680
26A	2922	LP	440	420
26A	2953	LP	550	360
26A	4410	LP	400	340
26A	4417	LP	390	430
26A	4420	LP	430	470
26A	6972	LP	410	370
26A	7050	LP	390	500
26A	7051	LP	490	420
26A	7884	LP	450	390
26A	8493	LP	320	320
26A	8500	LP	440	440
26A	8502	LP	450	480
26A	8518	LP	400	530
26A	8523	LP	440	450
26A	8551	LP	700	420
26A	5544 L	LP	400	380
średnia			437,00	423,00
sd			73,98	82,77

Wyniki analiz oporności elektrycznej mleka z prawych przednich ćwiartek wymienia od krów z gospodarstwa w Białym Borze pokazano w tabeli 33. Średnia wartość tego parametru fizycznego w mleku prawych przednich ćwiartek gruczołu mlekowego przed badaniami wynosiła 423,91 jednostek, natomiast po 37 dniach stosowania preparatu uległa bardzo nieznacznemu spadkowi do wartości 423,04. Obniżenie poziomu oporności elektrycznej mleka stwierdzono u 13 krów, u żadnej nie był to jednak spadek poniżej rekomendowanej wartości 250-300 jednostek.

Tabela 33

Średni poziom oporności elektrycznej mleka wg. pomiarów aparatem Dramińskiego – Biały Bór

preparat	numer krowy	ćwiartka wymienia	przed rozpoczęciem	po 37 dniach
26A	539	PP	310	340
26A	630	PP	450	400
26A	636	PP	480	420
26A	1367	PP	460	320
26A	1713	PP	470	450
26A	1719	PP	380	600
26A	1730	PP	390	500
26A	2922	PP	400	420
26A	2953	PP	410	370
26A	4410	PP	430	350
26A	4417	PP	410	470
26A	4420	PP	440	500
26A	6972	PP	420	390
26A	7050	PP	430	500
26A	7051	PP	570	410
26A	7884	PP	420	430
26A	8493	PP	350	320
26A	8500	PP	420	410
26A	8502	PP	440	410
26A	8518	PP	440	470
26A	8523	PP	410	440
26A	8551	PP	420	400
26A	5542 L	PP	400	410
średnia			423,00	423,00
sd			48,97	65,26

Dane z pomiarów oporności elektrycznej mleka z lewych tylnych ćwiartek wymienia od krów z gospodarstwa w Białym Borze zamieszczono w tabeli 34. Przed rozpoczęciem badań przeciętna wartość omawianego parametru fizycznego wynosiła 399 przy odchyleniu standardowym na poziomie 42,95. Po 37 dniach stosowania ziołowej kąpieli strzyków wskaźnik oporności elektrycznej w mleku obniżył się do 367 jednostek, a jego spadek stwierdzono u 16 krów spośród grupy 23 sztuk objętych doświadczeniem. U jednej sztuki spadek ten był bardzo wyraźny – do wartości dolnej zalecanej normy 250 jednostek.

Tabela 34

Średni poziom oporności elektrycznej mleka wg. pomiarów aparatem Dramińskiego – Biały Bór

preparat	numer krowy	ćwiartka wymienia	przed rozpoczęciem	po 37 dniach
26A	539	LT	410	320
26A	630	LT	500	400
26A	636	LT	450	380
26A	1367	LT	390	250
26A	1713	LT	390	400
26A	1719	LT	430	390
26A	1730	LT	350	430
26A	2922	LT	370	350
26A	2953	LT	430	320
26A	4410	LT	400	310
26A	4417	LT	420	390
26A	4420	LT	400	390
26A	6972	LT	370	340
26A	7050	LT	370	450
26A	7051	LT	340	370
26A	7884	LT	420	350
26A	8493	LT	320	280
26A	8500	LT	350	380
26A	8502	LT	470	410
26A	8518	LT	380	460
26A	8523	LT	420	390
26A	8551	LT	430	340
26A	5545 L	LT	370	350
średnio			399,00	367,00
sd			42,95	51,01

W tabeli 35 zamieszczono wyniki pomiarów oporności elektrycznej mleka z prawych tylnych ćwiartek wymienia od krów z gospodarstwa w Białym Borze, przed oraz po okresie stosowania ziołowego preparatu do dippingu strzyków. Średnia wartość oporności elektrycznej mleka dla prawych tylnych ćwiartek przed rozpoczęciem badań wynosiła 416 jednostek, przy odchyleniu standardowym na poziomie 66,29. Po 37 dniach prowadzenia doświadczeń u 8 sztuk stwierdzono obniżenie tego parametru fizycznego w mleku, natomiast u 15 zwierząt wskaźnik ten uległ podwyższeniu, jednak był to poziom wzrostu, który nie wpłynął na ogólne zwiększenie wartości oporności elektrycznej mleka dla całej grupy. Przeciętna wartość oporności elektrycznej mleka po okresie stosowania dippingu dla całej grupy doświadczalnej uległa nieznacznemu obniżeniu do poziomu 409 jednostek. U żadnej z krów nie stwierdzono spadku oporności elektrycznej mleka w prawej tylnej ćwiartce wymienia do granicznej normy 250-300 jednostek.

Tabela 35

Średni poziom oporności elektrycznej mleka wg. pomiarów aparatem Dramińskiego – Biały Bór

preparat	numer krowy	ćwiartka wymienia	przed rozpoczęciem	po 37 dniach
26A	539	PT	330	410
26A	630	PT	460	430
26A	636	PT	430	440
26A	1367	PT	390	400
26A	1713	PT	360	430
26A	1719	PT	430	480
26A	1730	PT	410	460
26A	2922	PT	440	390
26A	2953	PT	430	370
26A	4410	PT	320	340
26A	4417	PT	380	430
26A	4420	PT	420	440
26A	6972	PT	400	380
26A	7050	PT	410	450
26A	7051	PT	570	410
26A	7884	PT	400	430
26A	8493	PT	300	320
26A	8500	PT	470	400
26A	8502	PT	470	410
26A	8518	PT	390	410
26A	8523	PT	410	440
26A	8551	PT	580	380
26A	5543 L	PT	390	370
średnio			416,00	409,00
sd			66,29	38,08

Zastosowanie preparatu 26a, jak wykazały badania mleka wykonane na urządzeniu BacSomatic, spowodowały w ciągu 37 dni wyraźny spadek lks z poziomu 1444 tys. Do poziomu 124 tys. Jednocześnie uległa obniżeniu ogólna liczba bakterii (IBC) ze średniego poziomu 58 do 9 (tabela 36). Także nastąpił wyraźny spadek liczby jednostek tworzących kolonie (CFU) z 42 do 2. Tylko jedna krowa produkowała mleko w dniu pomiaru znacznie powyżej normy dla zdrowego mleka (1 022 000 lks).

Tabela 36

Wyniki badania czystości mikrobiologicznej mleka - ogólnej liczby bakterii (IBC), jednostek tworzących kolonię (CFU) oraz liczby komórek somatycznych (LKS) z zastosowaniem urządzenia BacSomatik w mleku krów z gospodarstwa w Białym Borze.

Numer krowy	Preparat	Przed rozpoczęciem dippingu			Po 37 dniach dippingu		
		IBC	CFU	LKS	IBC	CFU	LKS
N 0539	26A	17	4	428 000	22	6	1 022 000
N 0630	26A	28	8	250 000	6	1	74 000
N 0636	26A	6	1	43 000	19	5	7 000
N 1367	26A	4	2	350 000	2	1	2 000
N 1713	26A	6	1	45 000	8	2	6 000
N 1719	26A	9	2	66 000	10	2	58 000
N 1730	26A	4	1	202 000	6	1	45 000
N 2922	26A	384	187	184 000	8	2	40 000
N 2953	26A	426	212	130 000	15	4	154 000
N 4410	26A	65	23	952 000	10	2	129 000
N 4417	26A	4	1	31 000	5	1	107 000
N 4420	26A	18	5	52 000	11	3	57 000
N 5542	26A	12	3	34 000	13	3	11 000
N 6972	26A	5	1	4 000	10	2	169 000
N 7050	26A	3	1	3 000	3	1	4 000
N 7051	26A	4	1	230 000	9	2	188 000
N 7884	26A	38	12	58 000	8	2	15 000
N 8493	26A	27	8	137 000	18	5	140 000
N 8500	26A	3	1	14 000	15	4	136 000
N 8502	26A	22	6	10 000	7	1	5 000
N 8518	26A	12	8	32 000	4	1	25 000
N 8523	26A	6	1	93 000	7	1	197 000
N 8551	26A	244	481	297 000	8	2	271 000
średnio		58,57	42,17	144 783,00	9,74	2,35	124 000,43
sd		120,31	111,05	207685,70	5,17	1,50	212 554,29

Wyjaśnienie zastosowanych skrótów: *IBC* – (z ang. *Individual Bacteria Count*) pojedyncza liczba bakterii, *LKS* – liczba komórek somatycznych, *CFU* (z ang. *colony forming units*) – jednostki tworzące kolonię

2.9.Badania terenowe – Wyczechowo-gospodarstwo II

Tabela 37 przedstawia wyniki badań poziomu komórek somatycznych oraz komórek systemu odpornościowego z rozróżnieniem na ich typy, w mleku krów z gospodarstwa ekologicznego w Wyczechowie, przed oraz po zastosowaniu preparatu do dippingu. Badaniami objęte były 14 sztuk krów mlecznych rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej znajdujące się w laktacjach od II do V. Na podstawie przeprowadzonych badań – prób ćwiartkowych z pozyskanego mleka stwierdza się zmienność pomiędzy poszczególnymi zwierzętami w stadzie w zakresie poziomu komórek somatycznych oraz komórek układu odpornościowego obecnych w analizowanym mleku. Średnia liczba komórek somatycznych (lks) w mleku wytypowanych krów w analizowanym stadzie, przed rozpoczęciem stosowania preparatu dippingowego, wynosiła 250 785,70 przy odchyleniu standardowym na poziomie 394 078,10. Przed dippingiem liczba krów, u których poziom lks mieścił się poniżej 100 tys. wynosiła 10 sztuk, u 1 krowy lks znajdowała się w przedziale pomiędzy 100 a 400 tys. i tylko u 3 sztuk lks przekraczała górną dopuszczalną normę 400 tys. Średni poziom limfocytów wynosił 41 473,70 i mieścił się z wyjątkiem trzech osobników w granicach do 50 tysięcy. W przypadku granulocytów średnio dla grupy poziom ich wynosił 5633,21 a makrofagów 70402,86. Tylko u 4 osobników poziom makrofagów był powyżej 100 tysięcy. Średni poziom komórek nabłonkowych wynosił 83 8480 ,71 i tylko u 2 osobników przekroczył 400 tysięcy.

Zastosowanie preparatu 26a jak wykazały badania mleka wykonane na urządzeniu BacSomatik skutkowały zmianami nie tylko poziomu lks w badanym gospodarstwie II 0 Wyczechowo, ale także ogólnej liczby bakterii (IBC) oraz ilości jednostek tworzących kolonie (CFU). Przed rozpoczęciem stosowania dippingu średnia lks mleka wynosił 213 600 komórek, natomiast po zakończeniu badań 219033,30. Tym samym stosowanie dippingu mogło przyczynić się do stabilizacji poziomu lks w mleku i hamować jego wzrost w badanym okresie. Biorąc pod uwagę ogólną liczbę bakterii (IBC) stwierdzono, że w badanym okresie kształtował się on stałym poziomie nie przekraczając 23 tysięcy czyli od 22 203, 40 do 22 321,60. Natomiast średnia liczba jednostek tworzących kolonie (CFU) utrzymywała się na stałym poziomie 4 tysięcy w rozkładzie od 4457,53 przed zastosowaniem dippingu do 4314,60 po zakończeniu jego stosowania.

Tabela 37

Badania poziomu komórek somatycznych w mleku krów przed i po zastosowaniu preparatu 26a – Wyczechowo

Wyniki analiz mleka przed zastosowaniem dippingu						n	Wyniki analiz mleka po zastosowaniu dippingu					
numer	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.		numer	lks	limfocyty	granulocyty	makrofagi	kom. nabł.
W 4946	33 000	6603	3 300	5 280	655	1	W 4946	31 000	7 840	1 280	14 200	1 038
W 0295	1 026 000	174 420	235 980	184 680	430 920	2	W 0295	1 006 000	112 600	285 546	120 720	487 134
W 2081	49 000	7 840	980	39 200	980	3	W 2081	42 000	6 720	1 680	1600	32 000
W 5017	23 000	3 680	460	18 400	460	4	W 5017	26 000	4 160	1 040	823	19 977
W 8108	9 000	1 440	175	7 200	185	5	W 8108	14 000	2 240	560	310	10 890
W 4664	297 000	50 700	59 400	100 900	86 130	6	W 4664	277 000	27 684	115 538	41 489	92 289
W 0179	14 000	2 240	285	11 200	275	7	W 0179	17 000	2 720	680	480	13 120
W 8075	25 000	4 000	495	20 000	505	8	W 8075	26 000	4 160	1 040	680	20 120
W 8023	1 115 000	189 550	256 450	200 700	468 300	9	W 8023	1 056 000	116 025	314 728	126 720	498 527
W 6828	704 000	105 600	197 120	225 280	176 000	10	W 6828	800 000	80 001	333 173	120 002	266 824
W 5019	54 000	8 640	1 080	43 200	1 080	11	W 5019	49 000	7 840	1 960	760	38 440
W 8028	95 000	15 200	1 900	76 000	1 900	12	W 8028	63 000	10 080	2 520	1600	48 800
W 0175	17 000	2 720	340	13 600	340	13	W 0175	36 000	5 760	1 440	800	28 000
W 8099	50 000	8 000	1 000	40 000	1 000	14	W 8099	57 000	9 120	2 280	1300	44 300
średnia	250 785,70	41 473,79	5 633,21	70 402,86	83 480,71		średnia	250 000,00	28 353,57	75 961,79	30 820,29	114 389,93
sd	394 078,10	65 931,86	96 279,32	77 377,58	163 102,80		sd	390697,40	41588,88	131320,42	50888,84	173443,74

Tabela 38

Wyniki badania czystości mikrobiologicznej mleka - ogólnej liczby bakterii (IBC), jednostek tworzących kolonię (CFU) oraz liczby komórek somatycznych (LKS) z zastosowaniem urządzenia BacSomatik w mleku krów z gospodarstwa w Wyczechowie

Numer krowy	Preparat	Przed rozpoczęciem dippingu			Po zakończeniu badań		
		IBC	CFU	LKS	IBC	CFU	LKS
W 8099	26A	9	2	47 000	11	3	60 000
W 0175	26A	19	5	6 000	8	4	38 000
W 8028	26A	14	4	87 000	17	4	63 000
W 0179	26A	5963	4745	11 000	4860	4720	21 000
W 8075	26A	129045	10000	41 000	135860	12000	42 000
W 5017	26A	4855	3724	19 000	3960	3500	30 000
W 5019	26A	67531	10000	21 000	66239	8500	49 000
W 0295	26A	23005	10000	1 123 000	23000	8500	1 020 000
W 8108	26A	555	289	9 000	680	310	13 500
W 8023	26A	42906	10000	769 000	41562	9500	680 000
W 2081	26A	48705	10000	29 000	49221	9600	62 000
W 4664	26A	7837	6548	289 000	6854	6520	265 000
W 4946	26A	1171	697	56 000	1020	586	51 000
W 6828	26A	116	46	650 000	132	52	850 000
W 4946	26A	1320	803	47 000	1400	920	41 000
średnio		22 203,40	4 457,53	213 600,00	22 321,60	43 14,60	219 033,30
sd		36532,27	4491,51	347729,53	37929,07	4391,55	337926,30

Wyjaśnienie zastosowanych skrótów: *IBC* – (z ang. *Individual Bacteria Count*) pojedyncza liczba bakterii, *LKS* – liczba komórek somatycznych, *CFU* (z ang. *colony forming units*) – jednostki tworzące kolonię

3. Wnioski

1. Za dolną skuteczną granicę działania antyseptycznego preparatu, tożsamą ze średnicą strefy zahamowania wzrostu, przyjęto wymiar - 7 mm. Im wyższa wartość dla stref tym lepsze działanie hamujące preparatu w odniesieniu do namnażania danego rodzaju patogenu. Wybór preparatów do dalszych doświadczeń terenowych podjęty został na podstawie działania antyseptycznego wobec najczęstszych drobnoustrojów patogennych dla wymienia oraz fizycznych właściwości preparatu takich jak stopień jego rozwarstwienia, homogenności płynu, wielkość i zakres oklejenia ścianek naczyń laboratoryjnych, wybarwienie preparatu, stopień oklejenia, przywierania i trwałości preparatu na wymieniu testowym (rękawica), podrażnienie skóry.
2. W preparatach z udziałem 10% czosnku dla gronkowców koagulozujemnych (CNS) średnie ograniczenie strefy wzrostu dla wszystkich analizowanych preparatów wynosiło 13,28 mm przy odchyleniu standardowym równym 3,95. W przypadku gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) średnia strefa ograniczenia wzrostu dla wszystkich preparatów wynosiła 14,67 mm, przy odchyleniu standardowym wynoszącym 1,67. Dla grzybów z gatunku *Candida krusei*, przeciętna strefa ograniczonego wzrostu kolonii dla wszystkich testowanych preparatów wynosiła 10,03 mm, przy odchyleniu standardowym wynoszącym 5,44. Spośród badanych 30-stu preparatów tylko jeden (próba 36) wykazywał działanie hamujące w odniesieniu do bakterii kałowych *Escherichia coli*. W przypadku bakterii *Streptococcus uberis* działanie hamujące wzrost jej kolonii wykazało 17 z analizowanych preparatów. W odniesieniu do bakterii z rodzaju *Enterococcus* spp. (tzw. enterokoków) średnia strefa zahamowania ich wzrostu łącznie dla wszystkich preparatów wyniosła 7,17 mm, z odchyleniem standardowym liczącym 4,57. Dziewięć spośród wszystkich badanych preparatów nie wykazywało działania ograniczającego wzrost kolonii bakterii z rodzaju *Enterococcus* spp.
3. W preparatach z udziałem 5% czosnku dla średnia wielkość strefy dla CNS była na poziomie 14 mm przy rozpiętości od 11 do 15 mm. Strefa dla *Staphylococcus aureus* kształtowała się na średnim poziomie 16 mm przy rozkładzie od 15 do 18 mm, natomiast dla *Candida krusei* badane preparaty hamowały rozwój w strefie o wielkości 10 mm przy rozkładzie od 9-11 mm. Nie stwierdzono działań hamujących rozwój *E.coli* w żadnym z badanych preparatów. Zaobserwowano jednak hamowanie *Str. Uberis* na obszarze 12 mm i *Enterococcus* na obszarze 10 mm.
4. Spośród typowanych w etapie badań laboratoryjnych preparatów wytypowano do badań terenowych w jednym z zakładów Instytutu Zootechniki dwa preparaty o numerze badawczym 25B oraz 26A.
5. W badaniach ilościowych mleka w przypadku preparatu 26a po okresie stosowania go przez 23 dni, procentowa liczba krów, u których stwierdzono przekroczenie norm jakościowych dla mleka wzrosła o 11 %, jednak przy nie przekroczonej nadal średniej ilości lks dla mleka zdrowego w badanej grupie. Tym samym w skali grupy preparat w większości utrzymał mleko w parametrach normy przy wzroście krów o wyższym lks o jedną sztukę względem stanu początkowego.
6. W badaniach ilościowych mleka po okresie 23 dni badań nad preparatem 25b procentowa liczba krów o przekroczonej normy dla mleka wynosiła 20 % zwierząt w grupie, co stanowiło wzrost o 10% względem stanu początkowego. Średni poziom lks także został przekroczony względem normy dla mleka. Jednak pod względem ilościowym krów o zbyt wysokim lks przez 23 dni pozostał on na stałym poziomie.
7. W badaniach jakościowych mleka wykonanych przez BacSomatik stwierdzono, że zastosowanie preparatu 25b spowodowały w ciągu dwóch tygodni wyraźny spadek

ogólnej liczby bakterii (IBC), spadek liczby jednostek tworzących kolonie (CFU), natomiast ogólny poziom lks obniżył się ze średniego poziomu 609 222 tys. komórek do 543 000. W przypadku preparatu 26a podobnie odnotowano spadek ogólnej liczby bakterii (IBC), spadek liczby jednostek tworzących kolonie (CFU), jednak badany poziom lks po zastosowaniu preparatu wyraźnie wzrósł. Tym samym proponowany preparat zdecydowanie słabiej zadziałał w omawianym okresie niż 25b.

8. W oparciu o analizy mleka aparatem Dramińskiego po 23 dniu badań w obydwu grupach doświadczalnych, w lewych przednich strzykach nastąpił wyraźny spadek oporności elektrycznej mleka. W grupie 26a średni poziom jednostek oporności elektrycznej mleka we wszystkich okresach był niższy niż w grupie z preparatem 25b. Także w przypadku badań przednich prawych ćwiartek stwierdzono, że krowy w grupie z preparatem 26a odznaczały się w niższym poziomie oporności elektrycznej mleka. Stwierdzono, że preparat 26a zdecydowanie obniżył poziom omawianego parametru fizycznego w badanych lewych tylnych ćwiartkach wymienia utrzymując tym samym mleko w normie, natomiast w grupie z preparatem 25b, spadek poziomu oporności mleka nadal utrzymywał się lekko ponad 415. W przypadku prawej przedniej ćwiartki omawiany preparat 26a wyraźnie wpłynął na zdrowotność wymion i stabilizację poziomu oporności elektrycznej w mleku względem 25b.
9. Badania terenowe w gospodarstwie I wykazały, że zaproponowany preparat 26a po 37 dniach stosowania obniża poziom komórek somatycznych w mleku. Dotyczy to także poziomu liczby limfocytów w próbach ćwiartkowych, granulocytów i makrofagów.
10. Po okresie 37 dni stosowania preparatu 26a zarówno w ćwiartkach prawych jak i lewych przednich, gdzie poziom oporność mleka mierzony był aparatem Dramińskiego, ulegał nieznacznemu zmniejszeniu, pomimo iż kąpieli poddawane były tylko tylne ćwiartki wymienia. Fakt ten świadczy o kompleksowym wpływie stosowanego preparatu na cały gruczoł mlekowy. Natomiast w przypadku ćwiartek tylnych poddanych bezpośrednio preparatowi, średnia wartość oporności elektrycznej mleka dla lewych i prawych tylnych ćwiartek ulegała nieznacznym wahaniom, jednak w większości obniżała się. U żadnej z krow nie stwierdzono spadku oporności elektrycznej mleka w tylnych ćwiartkach wymienia do granicznej normy 250-300 jednostek.