

Z przekroju guzów oraz śledziony wykonano preparaty mazane, które następnie wybarwiono metodami Stampa i Macchiavello. W preparatach tych stwierdzono liczne drobnoustroje (szczególnie w rozmazie z guzowatości śledziony), które morfologicznie zbliżone były do ciałek elementarnych *Chlamydia*. Rutynowo wykonane badania bakteriologiczne z wyinków guzów i śledziony dały wynik ujemny.

W obrazie histologicznym guzy w śledzionie, jamie miednicowej i w kroczu miały podobną strukturę, typową dla młodej tkanki ziarninowej. W utkaniu guzów przeważały elementy komórkowe (fibroblasty, nisucocydy, komórki plazmatyczne, limfocyty, granulocyty kwasochłonne i nieliczne komórki olbrzymie). Większe skupienia włókien kolagenowych znajdowały się na obwodzie guzów, gdzie tworzyły torebkę. U naczyń było dość bogate. Cienkościenne naczynia krwionośne dość często pękały powodując niewielkie wynaczynienia. Ilustracją opisanych zmian histopatologicznych jest ryc. 3.

Przeprowadzone badania pozwalają przypuszczać, że rozsiew drobnoustrojów z rodzaju *Chlamydia* z pierwotnego ogniska zapalnego w prawym jądrze buhaja spowodował zmiany w węzłach chłonnych i w śledzionie. Wskazuje to na zdolność adaptacyjną tych drobnoustrojów, wywołujących bedsonię płciową (charakteryzującą się zespołem zmian w narządzie rozrodczym), do układu limfatycznego.

Piśmiennictwo

1. Boryczko Z., Sadowski J. M., Truszczyński M., Majchrzyk H.: *Medycyna Wet.* (w druku).
2. Hencner Z.: *Choroba ptasia*, PZWL, 1971.
3. Jaśkowski L., Truszczyński M., Żebrowski L., Sadowski J. M., Matusiewicz J., Błujnis-Kłosowska D.: *Zesz. probl. Post. Nauk roln.* 124, 93, 1971.
4. Sadowski J. M., Truszczyński M.: *Medycyna Wet.* 28, 229, 1972.
5. Storz J., Carrol E. J., Ball L., Faulkner L. C.: *Am. J. vet. Res.* 29, 549, 1968.
6. Věžník Z.: *Zesz. probl. Post. Nauk roln.* 124, 81, 1971.

Adres autora: dr Zdzisław Boryczko, 40-585 Katowice, ul. Brynowska 25a.

HIGIENA I TECHNOLOGIA ŚRODKÓW SPOŻYWCZYCH

KAZIMIERA SYLWESTER

Występowanie gronkowców złocistych w mleku pochodzącym od krów z zapaleniem wymienia

Z Katedry Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynarii AR we Wrocławiu

Zatrucia pokarmowe produktami spożywczymi a w tym mlekiem i przetworami mlecznymi, zawierającymi enterotoksyczne gronkowce należą obecnie do najczęstszych (1, 6). Wynika to w znacznej mierze z dużego rozpowszechnienia tych drobnoustrojów w przyrodzie oraz z ciepłoporności wytwarzanej w różnych ilościach enterotoksyny. Bakterie te charakteryzują się dużą opornością na działanie czynników zewnętrznych. Są odporne na wysychanie, na skórze wymienia i strzyków mogą się nawet rozmnażać (10). Z zakażonej obory, a szczególnie gdy panują w niej złe warunki higieniczne, są bardzo trudne do usunięcia (15), a tym samym niełatwe jest uzyskanie mleka wolnego od tych drobnoustrojów. Nie bez znaczenia jest też fakt, że wskutek powszechnego stosowania antybiotyków zmniejszyła się ilość stanów zapalnych wymienia na tle paciorkowcowym, a wzrosła obecnie ilość zapaleń wywołanych przez gronkowce, które są bardziej

oporne na te leki, a równocześnie bardziej szkodliwe dla ludzi (7, 11, 15). Leczenie gronkowcowego zapalenia wymienia jest z wielu względów trudne. Zdolność przenikania tych drobnoustrojów głęboko w tkankę gruczołową (8, 10) powoduje, że często stany ostre przechodzą w chroniczne, podczas których gronkowce mogą być przez długi czas wydalane do mleka. Stany takie u zwierząt hodowanych w dużych stadach, pozostających pod stałym nadzorem lekarza weterynarii, są wykrywane. Natomiast u krów hodowanych w małych gospodarstwach rolnych często pozostają niezauważone albo nie przypisuje się im większego znaczenia. Ponieważ jednak mleko otrzymywane w tych gospodarstwach przeznacza się przede wszystkim do produkcji mleka spożywczego, przy istniejących chronicznych lub utajonych stanach zapalnych wymion na tle gronkowcowym, może ono stać się przyczyną zatrucia pokarmowego u konsumenta.

Aby przekonać się o stopniu tego zagrożenia, przebadano mleko dostarczane do punktu skupu, określając stan zdrowotny gruczolów mlekowych, stopień zakażenia mleka gronkowcami chorobotwórczymi oraz oporność wyosobnionych szczepów na działanie wysokich temperatur, stosowanych w procesie pasteryzacji.

Materiał i metody

Mleko pobierano w sposób jałowy wprost z dostarczanych konwi. Było ono oceniane przez pracownika mleczarni na podstawie obowiązujących prób kontrolnych jako dobre, nadające się do wyrobu mleka spożywczego. Każdą próbę mleka przebadano przy pomocy terenowego odczynu komórkowego (TOK) z płynem diagnostycznym Mastirapid. Miało to na celu wykrycie zaburzeń w stanie zdrowia gruczolu mlekowego i w sekrecji mleka (13, 16). Wyniki odczynu oznaczano zgodnie z obowiązującym schematem (9). Celem wykluczenia stanów zapalnych wymienia wywołanych przez paciorkowce, próby reagujące dodatkowo wysiewano na podłoże Edwardsa w modyfikacji Chodkowskiego i na podłoże używane w odczynie Hotisa. Równoległe we wszystkich pobranych próbach określano stopień zakażenia mleka gronkowcami. Mleko wysiewano ilościowo bezpośrednio na agar zwykły i Chapmana, inkubowano w temp. 37° przez 48 godz., obliczano kolonie ziarniaków, rozkładających mannitol. Szczepy, które nie wytwarzały katalazy ani nie rozkładały glukozy i mannitolu w warunkach beztlenowych wyeliminowano z dalszych badań.

Stopień zakażenia pozostałych prób mleka gronkowcami określono na podstawie ilości wyhodowanych w bezpośrednim posiewie kolonii następująco: pierwszy stopień zakażenia — oznacza od 1 do 30 gronkowców w 1 ml badanego mleka, drugi od 30 do 100, trzeci od 100 do 500, czwarty od 500 do 2000, piąty od 2000 do 5000 i szósty niepoliczalną ilość. Z dalszych badań odrzucono próby mleka, w których wzrost był słaby, określony jako pierwszy stopień zakażenia. Tak nieliczne bakterie mogły raczej pochodzić z przypadkowego zakażenia wtórnego, a nie z chorobowo zmienionego gruczolu mlekowego. Pozostałe szczepy poddano badaniu na zdolność wytwarzania fosfatazy, beta hemolizyny i koagulazy. Następnie wyosobniono gronkowce chorobotwórcze, które pochodziły przede wszystkim z mleka zakażonego w IV, V i VI stopniu, sprawdzono pod względem wrażliwości na antybiotyki, używając do tego powszechnie stosowanej metody dyfuzyjno-kraźkowej.

Aby przekonać się w jakim stopniu zabiegi termiczne wpływają na przeżywalność tych drobnoustrojów, gronkowce wytwarzające fosfatazę, beta hemolizynę i koagulazę, wyhodowane z mleka dodatnio reagującego w terenowym odczynie komórkowym, poddano pasteryzacji w temperaturze i czasie, jakie są stosowane w przemyśle mleczarskim (5). W tym celu przygotowano z 24 godzinnych hodowli kolejnych szczepów zawiesiny w wyjałowionym mleku. Zawiesiny te przetrzymano przez 60 minut w temperaturze 37° celem zaadoptowania się gronkowców w nowym środowisku, a następnie jedną ich część poddano pasteryzacji w temperaturze 62° przez 30 minut, drugą w 72° przez 30 sekund i trzecią w 80° przez 2 minuty. Po przeprowadzonym zabiegu mleko natychmiast schładzano do temperatury 5°. Skutek zabiegu kontrolowano przez bezpośredni ilościowy posiew mleka na agar zwykły i Chapmana po raz pierwszy tuż po pasteryzacji i wychłodzeniu go i po raz drugi po 36 godzinnym przetrzymaniu w temperaturze 37°. Gdyby więc w pierwszym posiewie nie można było stwierdzić obecności gronkowców, które tylko w bardzo niewielkiej ilości przeżyły pasteryzację, przetrzymanie ich w optymalnej temperaturze przez 36 godzin, musiałyby doprowadzić do namnożenia, a co za tym idzie, do łatwiejszego wykrycia w drugim posiewie.

Wyniki i omówienie

Na 100 prób badanego mleka w 75 stwierdzono obecność gronkowców. Stopień zakażenia tymi drobnoustrojami, występowanie cech charakterystycznych dla szczepów chorobotwórczych, jak też i wynik terenowego odczynu komórkowego, przedstawiały się następująco:

Z 24 prób mleka wyhodowano gronkowce w ilościach określonych jako I stopień zakażenia. II i III stopień stwierdzono w 21 próbach ale w żadnym przypadku mleko to nie reagoowało dodatnio w terenowym odczynie komórkowym, a tylko z dwóch prób wyosobniono szczepy wytwarzające fosfatazę, beta hemolizynę i koagulazę jednocześnie. IV stopień zakażenia stwierdzono w 14 próbach. Wyizolowane z nich gronkowce w czterech przypadkach wytwarzały jednocześnie fosfatazę, beta

Tab. 1. Wrażliwość gronkowców wyosobnionych z mleka o wysokim stopniu zakażenia (IV, V i VI) na antybiotyki

Rodzaj antybiotyku	Szczepy koagulazo-dodatnie								Szczepy koagulazo-ujemne			
	TOK dodatni				TOK ujemny				TOK ujemny			
	W	SW	SLW	O	W	SW	SLW	O	W	SW	SLW	O
Penicylina	4	—	2	4	11	1	—	—	7	—	—	2
Tetracyklina	—	—	3	7	3	3	1	5	1	1	1	6
Erytromycyna	5	4	1	—	11	1	—	—	6	3	—	—
Terramycyna	—	—	3	7	—	6	3	3	—	4	3	2
Aureomycyna	—	—	2	8	—	—	1	11	—	—	—	9
Chloromycetyna	6	3	1	—	4	7	1	—	7	1	1	—
Streptomycyna	6	1	3	—	7	3	2	—	5	2	2	—
Neomycyna	3	6	—	1	4	2	—	6	2	2	—	5
Ilość szczepów jednakowo reagujących (%)	30,0	17,5	18,75	33,75	41,5	23,8	8,2	26,5	39,0	18,0	9,7	33,3

Objaśnienia: Cyfry oznaczają ilość szczepów jednakowo reagujących na dany antybiotyk; TOK — terenowy odczyn komórkowy; Określenie stopnia wrażliwości szczepów: W — wrażliwy; SW — średnio wrażliwy; SLW — słabo wrażliwy; O — oporny.

hemolizynę i koagulazę, przy czym dwie próby reagowały dodatnio w odczynie z Mastirapidem, a dwie ujemnie. V stopień zakażenia stwierdzono w 14 próbach, 6 spośród nich reagowało dodatnio w odczynie komórkowym. Wyizolowane z tego mleka gronkowce we wszystkich przypadkach wytwarzały koagulazę i beta hemolizynę, a tylko w trzech nie wytworzyły fosfatazy. VI stopień zakażenia stwierdzono w dwóch próbach mleka. Obydwie reagowały dodatnio z Mastirapidem, a wyizolowane gronkowce wytwarzały koagulazę, fosfatazę i beta hemolizynę. Spośród wszystkich badanych szczepów gronkowców w pięciu przypadkach nie stwierdzono wytwarzania poszukiwanych enzymów.

Do pewnego stopnia znajduje to potwierdzenie w badaniu wrażliwości wyosobnionych drobnoustrojów na antybiotyki (tab. 1) (12). Szczepy gronkowców koagulazo-dodatnich, pochodzące z mleka o dodatnim terenowym odczynie komórkowym były w 52,5% odporne lub słabo wrażliwe. Tak duży procent oporności pozwala przypuszczać, że mleko pochodziło od krów, u których zapalenie wymienia leczono niewłaściwie, bez uprzedniej kontroli oporności stwierdzonych drobnoustrojów. Szczepy gronkowców koagulazo-dodatnich, pochodzących z mleka o ujemnym odczynie komórkowym, wykazały pełną wrażliwość na penicylinę, a w 34,4% oporność lub słabą wrażliwość na pozostałe antybiotyki. W gruczole mlekowym drob-

Tab. 2. Bakteriologiczna kontrola skuteczności pasteryzacji mleka, zawierającego wyizolowane szczepy gronkowców chorobotwórczych

Nr szczepu	R o d z a j p a s t e r y z a c j i					
	62°/30 minut		72°/30 sekund		80°/2 minuty	
	wysiew		wysiew		wysiew	
	bezpo- średni	po 36 go- dzinach	bezpo- średni	po 36 go- dzinach	bezpo- średni	po 36 go- dzinach
16	16	+	68	+++	7	+
17	—	—	1	+++	—	—
26	—	—	—	—	9	+
46	72	+++	68	+++	12	+++
50	13	+	50	+++	4	—
58	2	—	59	+	—	—
67	—	—	18	+++	22	+++
75	4	—	—	—	1	—
83	3	+	—	—	—	—
95	—	+	—	+	7	+
% gronkowców żywotnych po pa- steryzacji	0,075		0,19		0,041	

Objaśnienia: Cyfry oznaczają ilość gronkowców, które nie zostały zniszczone podczas pasteryzacji; — = wyraża brak gronkowców w mleku po przeprowadzonej pasteryzacji; + = wzrost nikły; +++ = wzrost obfity.

Na podstawie otrzymanych wyników, uznając zdolność wytwarzania koagulazy za najbardziej stałą cechę związaną z chorobotwórczością gronkowców (4, 6) stwierdzono, że wśród 100 konwi mleka dostarczonych wówczas do punktu skupu, 22 zawierały mleko zakażone różnymi ilościami gronkowców chorobotwórczych. Mleko to w dziesięciu przypadkach dało dodatni odczyn z płynem diagnostycznym Mastirapid (oznaczony ++, + lub ±), a w odczynie Hotisa wzrost charakterystyczny dla gronkowców chorobotwórczych. Pochodziło więc od krów chorych na chroniczne zapalenie wymienia. W dwunastu natomiast konwiach, dostarczono mleko, które mimo silnego stopnia zakażenia gronkowcami chorobotwórczymi w terenowym odczynie komórkowym dało wynik ujemny. Otrzymano je od krów o utajonym zakażeniu gruczolu mlekowego albo o niedostrzegalnym klinicznie stanie zapalnym (15).

noustroje te nie wywołały procesu chorobowego. 43% oporności lub słabej wrażliwości u szczepów koagulazo-ujemnych, przy równoczesnym zachowaniu zdolności wytwarzania fosfatazy i beta hemolizyny pozwala przypuszczać, że drobnoustroje te nabywając cech oporności na antybiotyki, utraciły zdolność wytwarzania koagulazy, zachowując inne cechy związane z chorobotwórczością (3, 6).

Skutek przeprowadzonej pasteryzacji mleka zakażonego szczepami wyosobnionymi z badań przedstawia tab. 2. Wynika z niej, że pasteryzacja w każdej z zastosowanych temperatur była w pełni skuteczna tylko w 30% prób. W 70 natomiast procentach prób pozostawały przy życiu gronkowce, stwierdzane albo już w pierwszym albo dopiero w drugim posiewie kontrolnym. Z ogólnej ilości drobnoustrojów poddanych pasteryzacji w 62° przez 30 minut pozostawało przy życiu 0,075%, po 30 sekundach w temp. 72° — 0,19%, po 2 minutach w

temp. 80° — 0,041%. Otrzymane wyniki dowodzą, że pasteryzacja nie daje gwarancji całkowitego zabicia chorobotwórczych gronkowców złocistych, pochodzących z chronicznego stanu zapalnego wymienia. Mleko pasteryzowane, wyprodukowane z mleka silnie zakażonego może więc zawierać pewną ilość tych drobnoustrojów, a przechowywane w warunkach sprzyjających namnożeniu się bakterii, może stać się przyczyną zatrucia pokarmowego (2, 3, 14).

Wnioski

1. Gronkowce chorobotwórcze zawarte w surowym mleku, pochodzącym od krów z nieujawnionym lub chronicznym stanem zapalnym wymienia, nie ulegające w pełni skutkom pasteryzacji, stanowią w mleku spożywczym potencjalne źródło intoksykacji gronkowcowej.

2. Mleko przyjmowane do punktu skupu winno być poddawane badaniu, wykazującemu zmiany charakterystyczne dla stanów zapalnych wymienia oraz rodzaj wywołujących je bakterii (np. odczyn TOK i Hotisa). Ewentualny dodatni wynik tych badań, wskazujący na obecność w mleku chorobotwórczych gronkowców, winien powodować gromadzenie mleka w osobnych pojemnikach i pasteryzowanie go w surowszych warunkach.

Piśmiennictwo

1. Anusz Z.: Medycyna Wet. 25, 349, 1969.
2. Dłużewska A., Bilńska M.: Prz. mlecz. 15, 20, 1966.
3. Hattowska H.: Prz. mlecz. 18, 12, 1969.
4. Kajeł S.: Medycyna Wet. 23, 75, 1966.
5. Pijanowski E.: Metody wykrywania i określania pasteryzacji mleka, PWRiL, 1951.
6. Płiszka A.: Gronkowcowe zatrucia pokarmowe, PZWL, 1962.
7. Płiszka A.: Roczniki PZH 14, 199, 1963.
8. Płiszka A.: Międzynarodowe Sympozjum, Bydgoskie Tow. Nauk., Bydgoszcz 1968.
9. Polska Norma, PN-69/A-86031.
10. Pribyl E.: Ginekologia weterynaryjna, PWRiL, 1968.
11. Renk W.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 74, 1, 1961.
12. Samborski Z.: Konsultacje ustne.
13. Sonta J.: Użytkowanie mleczne krów, PWRiL, 1965.
14. Tec W. J.: Bakteriologia sanitarna, PZWL, 1955.

15. Wiśniewski J., Grajewska P., Grajewski H.: Występowanie oraz niektóre problemy zwalczania chorób gruczołu mlekowego u krów, Bydgoskie Tow. Nauk. Bydgoszcz 1963.
16. Wiśniewski J.: Higiena i schorzenia gruczołu mlekowego krowy, PWRiL, 1969.

Adres autora: dr Kazimiera Sylwester, 50-310 Wrocław, ul. Klary Zetkin 48 m. 8.

Сыльвэстар К. — Частота появления в молоке золотистых стафилококков из хронических и латентных маститов.

Исследовали 100 образцов молока доставленного частными поставщиками в пункт заготовки молока. Определяли степень заражения молока патогенными золотистыми стафилококками, состоянием здоровья молочных желез и выносливость бактерий на действие пастеризации.

Установили, что 10% молока содержащего выше 500 стафилококков/1 мл происходило от коров страдающих хроническим маститом, а 12% молока содержащего от 100 до 1000 микробов/1 мл, но реагирующего отрицательно в клеточной реакции, происходило от коров и латентной инфекцией вымени. Выделенные патогенные стафилококки подвергнутые пастеризации в 62°, 72° и в 80° остались живыми в 0,075%, 0,19% и в 0,041%. Автор предлагает чтобы в состав рутинных исследований применяемых в пунктах заготовки молока ввести клеточный тест и пробу по Хотиса а молоко содержащее патогенные стафилококки подвергать процедурам полностью ликвидирующим возможность стафилококковой пищевой интоксикации.

Sylwester K. — The frequency of Staphylococcus aureus occurrence in milk from chronic and latent infections of the udder.

There was examined 100 samples of milk derived from individual farmers and supplied to the milk purchasing centre. There was determined the degree of raw milk infection with Staph. aureus, the state of the udder and resistance of the strains isolated to pasteurization process. It was found that 10% of milk containing from 500 Staph. aureus cells/ml derived from cows with chronic mastitis. Twelve per cent of milk samples containing from 100 to 1000 bacteria/ml and reacting negatively in field cell test, were obtained from cows with latent infection of udder. The isolated strains of staphylococci pasteurized at 62; 72° and 80°C were viable in 0.075, 0.19 and 0.041%, respectively. The author suggest to introduce the field cell test and Hotis' test to routine examinations of milk in the milk purchasing centres. In order to liquidate milk staphylococcal intoxications Staph. aureus should be entirely destroyed in infected milk.

BYCZEWOJ I. F.: Badania nad chorobą obrzękową prosiąt. (Izuczeniej otiecznoj boleznj porosiat). Wietierinaria 4, 55—56, 1973.

Badania zostały przeprowadzone w warunkach terenowych rejonu Starodubskiego okręgu Briańskiego. Prosięta chorowały na 3—10 dzień po odsadzeniu; niekiedy zapadały również prosięta oseski lub warchlaki w wieku do 4-ch miesięcy. Zachorowalność w zapowietrzonych grupach wynosiła 93,8%, przy czym zwierzęta nie leczone prawie wszystkie padały. Z kału chorych zwierząt wyosobniono w 71,1% hemolityczną pałeczkę okrężnicy. Z zawartości jelita cienkiego prosiąt padłych wyosobniono hemolityczną pałeczkę okrężnicy w 67,8% a z krezkowych węzłów chłonnych w 57,1% przypadków zbadanych. W celach zapobiegawczych w zapowietrzonych grupach prosiąt w okresie wybuchu choroby stosowano domięśniowo po 30—40 ml (1,5—2,0 ml na 1 kg z.c.c.) wysokowartościowe surowice: przeciwko pastereozie (zachorowało 1,1%), przeciwko różycy świń (zachorowało 1,4%) lub przeciwko pomorowi świń (zachorowało 0,6%). Spośród 47

prosiąt nie zaszczipionych surowicą padło 44 tj. 93,8%. Zauważono przy tym, że zastosowanie surowicy na kilka dni przed przypuszczalnym pojawieniem się choroby lub w mniejszych dawkach nie dało pozytywnych wyników. U prosiąt chorych poza jedną z wymienionych surowic w (dawce 30—40 ml) stosowano domięśniowo lub dootrzewnowo po 250—300 tysięcy jednostek streptomycyny lub neomycyny wraz z 100—200 tysiącami jednostek tetracykliny 2 razy na dobę w ciągu 3—4-ch dni. Prócz tego wprowadzano im codziennie po 100—200 mcg witaminy B₁₂ lub innych witamin z grupy B. Efektywność leczenia prosiąt przy użyciu neomycyny, surowic i witaminy B₁₂ wynosiła 98,2%, a przy użyciu streptomycyny wraz z wyżej wymienionymi lekami 93,8%. Leczenie tymi samymi preparatami, ale bez witaminy B₁₂ dawało wyniki o 4,3—5,2% gorsze.

Na podstawie wyników badania pasz autor przypuszcza, że czynnikiem uszabiającym przy chorobie obrzękowej prosiąt jest niedobór wapnia i jodu.

J.