

EWA GARDZINA, GENOWEFA BONCZAR

Przydatność testu Whiteside'a i oznaczenia gęstości w ocenie normalności mleka z poszczególnych ćwiartek oraz mieszanego z całego wymienia

Zespół Surowców Zwierzęcych Instytutu Hodowli Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR, al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Mastitis jest złożoną jednostką chorobową, obejmującą szereg form, które można wykryć za pomocą metod klinicznych, mikrobiologicznych i cytologicznych. Zapaleniu wymienia towarzyszą zmiany w mleku ilości leukocytów i enzymów im towarzyszących, zawartości podstawowych składników oraz cech fizycznych mleka (3, 4, 5). Zakres tych zmian jest różny i zależy głównie od nasilenia stanu zapalnego wymienia (3).

Celem pracy było sprawdzenie przydatności testu Whiteside'a i oznaczenia gęstości w ocenie normalności mleka pobranego z poszczególnych ćwiartek oraz mieszanego z całego wymienia.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło mleko pochodzące od krów rasy ncb z obory RZD Mydlniki, które poddane zostało wstępnym badaniom testem z „Mastirapidem” (8). Mleko zdajano dojarką czteroćwiartkową Impulsa (prod. NRD), uzyskując je oddzielnie z każdej ćwiartki. Do badań wybrano 40 krów, u których stwierdzono równocześnie co najmniej jedną ćwiartkę wymienia zdrową (reakcja z „Mastirapidem” ujemna) i jedną chorą (reakcja dodatnia).

W pobranym mleku oznaczono: liczbę komórek somatycznych met. Prescott-Breeda (6), gęstość lakto-densymetrem (9) oraz wykonano test Whiteside'a (13).

Po zmieszaniu mleka z poszczególnych ćwiartek wymienia uzyskano również mleko z całego udoju, w którym wykonano te same analizy, co w mleku pochodzącym z poszczególnych ćwiartek wymienia.

Wyniki badania mleka z poszczególnych ćwiartek wymienia opracowano w następujący sposób:

— porównano metodę Prescott-Breeda i test Whiteside'a, uznając zgodność między metodami w tym przypadku, jeżeli mleko zawierało w 1 ml do 500 tys. komórek somatycznych i reagowało ujemnie w teście diagnostycznym lub zawierało w 1 ml powyżej 500 tys. komórek somatycznych i reagowało \pm , +, ++, +++, +++++,

— wykonano dwuczynnikową analizę wariancji (12) w celu sprawdzenia wpływu stanu zdrowotnego poszczególnych ćwiartek wymienia na gęstość mleka,

— obliczono współczynnik korelacji — r (12) — w celu sprawdzenia współzależności między liczbą komórek somatycznych w mleku a jego gęstością.

Sprawdzono ponadto wpływ jednej, dwóch lub trzech chorych ćwiartek wymienia na liczbę komórek somatycznych, wynik testu Whiteside'a oraz gęstość mleka mieszanego z całego wymienia.

Wyniki i omówienie

Badanie liczby komórek somatycznych metodą Prescott-Breeda w mleku pobranym od 40 krów wykazało, że jedynie 30 krów miało co najmniej jedną chorą i jedną zdrową ćwiart-

kę wymienia. Pozostałe krowy były zdrowe, mimo, że test z „Mastirapidem” wykazał co najmniej w jednej ćwiartce stan zapalny. Różnicę między wynikami obu metod obserwowano również w innych badaniach (1, 2).

Spośród 120 przebadanych ćwiartek (u 30 krów) stwierdzono na podstawie metody Prescott-Breeda stan zapalny jedynie w 47 (39,16%), gdyż pobrane z nich mleko zawierało w 1 ml powyżej 500 tys. komórek somatycznych (13) — średnio 1373,6 tys. W mleku z pozostałych ćwiartek (60,84%) stwierdzono średnio 88,7 tys. komórek w 1 ml. Natomiast liczba komórek somatycznych w mleku mieszanym od 30 krów wynosiła \bar{x} = 367 tys.

Tab. 1. Wpływ liczby chorych ćwiartek wymienia na zawartość komórek somatycznych w mleku mieszanym

Liczba chorych ćwiartek w wymieniu	Liczba krów	Wariant I		Wariant II	
		Liczba prób mleka mieszanego 1 lks powyżej 500 tys.	% wykryw. stanu zapaln.	Liczba prób mleka mieszanego 1 lks powyżej 300 tys.	% wykryw. stanu zapaln.
1	19	3	15,7	8	42,1
2	7	2	28,5	4	57,1
3	4	3	75,0	4	100,0

W tab. 1 przedstawiono wpływ stanu zapalnego jednej, dwóch lub trzech ćwiartek wymienia na liczbę komórek somatycznych w mleku mieszanym z całego wymienia. Przedstawiono w niej dwa warianty — w pierwszym przyjęto granicę 500 tys. komórek w 1 ml mleka normalnego zarówno pobranego z poszczególnych ćwiartek, jak i mieszanego z całego wymienia, w drugim wariantcie granicę tę obniżono do 300 tys. jedynie w stosunku do mleka mieszanego. Stosując granicę 500 tys. komórek somatycznych jako górną dla mleka normalnego przy jednej chorej ćwiartce i trzech zdrowych tylko 15,7% prób mleka mieszanego zawierało wyższą od 500 tys. liczbę komórek, podobnie przy dwóch chorych i dwóch zdrowych ćwiartkach tylko 28,5% prób mleka mieszanego uznano za „mastitisowe”.

Dopiero przy trzech chorych ćwiartkach w 75% w mleku mieszanym z całego wymienia zaobserwowano podwyższoną liczbę komórek. W wariantcie drugim stwierdzono, że już przy jednej chorej i trzech zdrowych ćwiartkach 42,1% prób mleka mieszanego zawierało więcej od 300 tys. w 1 ml, przy dwóch chorych ćwiartkach już w 57% mleko mieszane wykazywało stan zapalny w wymieniu, a przy trzech chorych ćwiartkach na podstawie mleka miesza-

nego w 100% można było stwierdzić stan zapalny w wymieniu. Obniżenie patologicznej granicy dla liczby komórek somatycznych w mleku mieszanym sugerowali również inni autorzy (10, 11). Swoje rozważania odnosili oni jednak najczęściej do mleka mieszanego z całej obory.

Wyniki badania mleka z poszczególnych ćwiartek wymienia testem Whiteside'a przedstawiono w tab. 2.

Tab. 2. Porównanie wyników testu Whiteside'a i metody Prescott-Breeda

Wynik testu Whiteside'a	Liczba reakcji zgodnych	Liczba reakcji niezgodnych	% zgodności wyników obu metod
Ujemny (-)	51	1	98,0
Wątpliwy (±)	0	13	0
Dodatni (+)	3	6	33,3
(H+)	13	6	68,4
(H+)	27	0	100,0

Stwierdzono, że test Whiteside'a wykazał najwyższą zgodność z metodą Prescott-Breeda przy reakcji silnie dodatniej (++++) — 100% i ujemnej (—) — 98%, natomiast przy reakcji wątpliwej (±) wykazał całkowitą niezgodność; również wysoką niezgodność obu metod stwierdzono przy reakcji dodatniej (+) — 67,7% (tab. 2). Ściubisz i wsp. (13) podają za Negeswararao, że na ścięcie NaOH w teście Whiteside'a wpływają następujące substancje: jądra leukocytów, jony wapnia (osłabiają reakcję), białko leukocytów, kuleczki tłuszczowe i fibrynogen. Być może, iż w przypadku zaobserwowanej niezgodności przy reakcjach ± oraz + zadecydowały inne czynniki, a nie tylko komórki leukocytów.

Tab. 3. Wyniki testu Whiteside'a w zależności od liczby ćwiartek wymienia — liczba prób (%)

Liczba chorych ćwiartek w wymieniu	Reakcja mleka mieszanego w teście Whiteside'a					Opólna liczba prób
	Ujemna (-)	Wątpliwa (±)	Obdatnia (+)	Obdatnia (H+)	Obdatnia (H+)	
1	3 (15,9)	7 (36,8)	4 (21,0)	4 (21,0)	1 (5,3)	19
2	1 (4,3)	3 (12,0)	1 (4,3)	2 (8,0)	0	7
3	0	0	0	3 (12,0)	1 (25,0)	4

W tab. 3 przedstawiono wyniki testu Whiteside'a dla mleka mieszanego z całego wymienia przy różnej liczbie chorych ćwiartek. Wynika z niej, że przy jednej chorej i trzech zdrowych ćwiartkach wymienia reakcja mleka mieszanego była bardzo zróżnicowana, natomiast przy trzech chorych ćwiartkach wszystkie próby mleka mieszanego reagowały dodatnio z NaOH. Jeżeli przyjąć dla mleka mieszanego reakcję wątpliwą (±) — jako świadczącą o zapaleniu wymienia, wówczas już przy jednej chorej ćwiartce i trzech zdrowych stan zapalny byłby wykryty w 84%. Natomiast gdyby przyjąć reakcję dodatnią (+) dla mleka mieszanego, jako świadczącą o zapaleniu wymienia, wówczas stan zapalny byłby wykryty tylko w 47,3% przy jednej chorej i trzech zdrowych ćwiartkach.

W mleku pobranym z poszczególnych ćwiartek wymienia badano jego gęstość, która wynosiła średnio 1,0275 g/cm³ dla mleka normalnego (ze zdrowych ćwiartek), a dla mleka o podwyższonej liczbie komórek somatycznych była niższa i wynosiła $\bar{x}=1,0257$ g/cm³. Obie wartości średnie były niższe od wymaganej przez Polską Normę dla mleka surowego w skupie (7).

Dwuczynnikowa analiza wariancji wykazała, że istnieje istotna statystycznie różnica między ćwiartkami zdrowymi i chorymi w gęstości mleka ($p \leq 0,01$); również istotną statystycznie różnicę stwierdzono między krowami w wartości tej cechy mleka ($p \leq 0,01$). Niższą gęstość mleka pobranego od krów chorych na zapalenie wymienia stwierdzili także Leonhard-Kluz i wsp. (5) oraz Kielsznia i wsp. (4).

Współzależność między liczbą komórek somatycznych w mleku a jego gęstością określono za pomocą współczynnika korelacji, który dla 120 przebadanych prób wynosił $r=-0,25$ i był istotny statystycznie. Nieduża wartość współczynnika korelacji potwierdza opinie, że na gęstość mleka wpływają również inne czynniki niż tylko stan zdrowotny wymion.

Gęstość mleka mieszanego stopniowo się obniżała przy wzroście liczby chorych ćwiartek i wynosiła średnio: przy jednej chorej ćwiartce i trzech zdrowych — 1,0277 g/cm³, przy dwóch chorych i dwóch zdrowych ćwiartkach — 1,0262 g/cm³, przy trzech chorych ćwiartkach i jednej zdrowej — 1,0260 g/cm³.

Wnio ski

1. Większą wykrywalność zapalenia w poszczególnych ćwiartkach wymienia można zaobserwować przy obniżeniu granicy patologicznej dla liczby komórek somatycznych w mleku mieszanym z 500 tys. do 300 tys. w 1 ml.

2. Mleko z poszczególnych ćwiartek wymienia reagujące ujemnie i wątpliwie w teście Whiteside'a można uznać za normalne, natomiast reakcja wątpliwia mleka mieszanego z całego wymienia wskazuje na stan zapalny w poszczególnych jego ćwiartkach.

3. Mleko z chorych ćwiartek wymienia ma niższą gęstość niż ze zdrowych.

4. Współzależność między liczbą komórek somatycznych a gęstością mleka jest niewysoka i ujemna ($r=-0,25$) i nie upoważnia do uznania gęstości mleka jako wystarczającego parametru w ocenie jego normalności.

Piśmiennictwo

1. Bonczar G., Clurus H.: Zesz. nauk. AR Kraków, Zoot. 135, 63, 1977.
2. Grajewski H.: BNT Prace Wyd. Nauk Przyrod. Seria B. 5, 99, 1966.
3. Kłsza J.: Badania nad zmianami w składzie mleka krów chorych na zapalenie wymienia z uwzględnieniem jego przydatności do przerobu. Praca hab. Wyd. WSR Olsztyn, 1968.
4. Kielsznia R., Jakubiak R., Łysakowski K.: Zesz. probl. Post. Nauk rol. 207, 119, 1978.
5. Leonhard-Kluz I., Pietrzak H.: Roczn. nauk. Zoot. 4, 63, 1977.
6. Pinkiewicz E.: Podstawowe badania laboratoryjne w chorobach zwierząt. PWRiL, 1971.

7. PN-81/A-86002. Mleko surowe do skupu.
8. PN-69/A-86031. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne.
9. PN-68/A-86122. Metody badań.
10. Reichmuth J., Tolle A., Hoeschem W.: *Milchwiss.* 31, 434, 1975.
11. Renner E.: *Arch. Lebensmittelhyg.* 26, 163, 1975.
12. Ruszczyk Z.: *Metodyka doświadczeń zootechnicznych.* PWRiL, 1970.
13. Scitubisz A., Kazanek M.: *Przegl. mlecz.* 5, 5, 1982.
14. Scitubisz A., Kazanek M.: *Przegl. mlecz.* 8, 22, 1982.

Adres autora: mgr inż. Ewa Gardzina, ul. Siewna 21A/69, 31-231 Kraków

Гардзина Э., Бончар Г. — Пригодность теста Уайтсайда и определения густоты для оценки нормальности молока из отдельных долей и смешанного из всего вымени

В молоке, взятым от 30 коров из отдельных долей и смешанном из всего вымени, определили число соматических клеток методом Прескотт-Брида, густоты ареометрически и выполнили тест Уайтсайда. Отмечено, что большую обнаруживаемость воспаления в отдельных долях вымени можно наблюдать при понижении патологического предела для числа соматических клеток в смешанном молоке т 500 тыс. до 300 тыс. в 1 мл. Молоко из отдельных долей вымени, реагирующее отрицательно и сомнительно в тесте Уайтсайда, можно считать нормальным, зато сомнительное реагирование смешанного молока из всего вымени указывает на воспалительное состояние в отдельных его долях.

Молоко из больных долей вымени имеет низшую густоту чем из здоровых. Взаимозависимость между числом соматических клеток и густотой молока невысока и отрицательна ($r = -0,25$) и не уполномочивает к сочтению густоты молока достаточным параметром для оценки его нормальности.

Gardzina E., Bonczar G. — The usefulness of Whiteside test and density determination for the evaluation of milk normality from individual quarters of the udder and a mixed milk from the whole udder

The number of somatic cells acc. to Prescott-Bredd aerometric density and Whiteside test were determined in milk collected from individual quarters of udder of 30 cows and in milk from the whole udder. It was found that a higher detection of inflammations in individual quarters of the udder can be obtained when pathological border for the number of somatic cells in the mixed milk is decreased from 500 000 to 300 000 cells/ml of milk. Milk from individual quarters of the udder reacting positively and doubtfully in Whiteside test can be recognized as normal. In the contrary, the doubtful reaction of milk obtained from the whole udder points to an inflammatory state of individual quarters of the udder. Density of milk from sick quarters of the udder is lower than that of healthy ones. Correlation between a number of somatic cells and milk densities is negative and low ($r = -0,25$) and it does not allow to recognize milk density as a sufficient parameter of milk normality.

WŁADYSŁAW WAWRON, JAN KRZYŻANOWSKI, EDWARD MALINOWSKI,
SŁAWOMIR ORLIK, JAN GŁUSZAK

Poziom i czas utrzymywania się oksytetracykliny i detreomycyny we krwi i mleku owiec po domięśniowym podaniu preparatu „Oxyvet” Polfa i „Detreomycinum” Polfa*)

Klinika Położnicza Instytutu Nauk Klinicznych Wydziału Weterynaryjnego AR,
Al. PKWN 30, 20-612 Lublin

Detreomycyna oraz oksytetracyklina, jako antybiotyki o szerokim spektrum działania, stosowane są w medycynie weterynaryjnej do zwalczania szeregu infekcji wywołanych przez bakterie, riketsje i niektóre wirusy. Z wcześniej przeprowadzonych badań własnych (4) wynika, że drobnoustroje izolowane z wydzieliny zapalnej gruczołów mlekowych owiec odznaczają się także dużą wrażliwością na te antybiotyki. Mając na uwadze możliwość wykorzystania chloramfenikolu i oksytetracykliny w leczeniu zapalenia wymion owiec, postanowiono oznaczyć ich poziom i czas utrzymywania się w surowicy krwi i mleku po zastosowaniu różnych dawek Oxyvetu i Detreomycinum Polfa.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 16 owcach welnistomysłnych, będących w 3 miesiącu laktacji. Dwu owcom podano jednorazowo, domięśniowo Oxyvet w dawce 15 mg/kg m.c. Dwu innym podano ten preparat trzykrotnie domięśniowo w odstępach 48 godzin. Pierwsza dawka wynosiła 15 mg/kg m.c., dwie następane natomiast po 10 mg/kg m.c. Trzem owcom

podano Oxyvet trzykrotnie domięśniowo w odstępach 36 godzin w dawce 15 mg/kg m.c. Detreomycynę podano dwu owcom jednorazowo domięśniowo w dawce 25 mg/kg m.c., trzem owcom jednorazowo domięśniowo w dawce 50 mg/kg m.c. oraz 4 owcom sześciokrotnie domięśniowo co 12 godzin w dawce 50 mg/kg m.c. Poziom obu badanych antybiotyków w surowicy krwi i mleku oznaczano metodą cyklinderkową. Do oznaczenia oksytetracykliny użyto szczepu *Bacillus cereus v. mycoides* 11778 ATCC, zaś do oznaczenia poziomu detreomycyny szczepu *Sarcina lutea* 9341 ATCC. Najniższe wykrywalne stężenie oksytetracykliny wynosiło 0,05 mcg/ml, detreomycyny zaś 1,85 mcg/ml. Próbkę krwi i mleka do oznaczenia poziomu oksytetracykliny zarówno po jednorazowym, jak i trzykrotnym podaniu Oxyvetu pobierano w 6, 12, 24 godz. W późniejszym okresie oznaczeń dokonywano co 12 godzin aż do spadku poziomu antybiotyku w badanych płynach poniżej wykrywalnych wartości. Próbkę krwi i mleka do oznaczenia poziomu chloramfenikolu pobierano w 3, 6, 9, 12, 15 i 18 godz. po jednorazowym podaniu detreomycyny w dawce 25 mg/kg m.c. i w 3, 4, 5, 6, 9, 12, 15, 18 i 24 godz. po jednorazowym podaniu w dawce 50 mg/kg m.c. U owiec, którym detreomycynę podawano 6-krotnie w odstępach 12 godzinnych w dawce 50 mg/kg m.c. oznaczenia wykonywano co 6 godzin, aż do spadku poziomu antybiotyku w badanych płynach poniżej wykrywalnych wartości. Przed podaniem antybiotyków od wszystkich badanych owiec pobrano krew i mleko

*) Praca wykonana w ramach tematu MRIL.10.