

CZESŁAW KUREK, MAREK KACPRZYŃSKI

Współistnienie wyników próby Whiteside'a w zależności od obecności w mleku płynu konserwującego zawierającego glicerynę i kwas borowy

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk 5

Zmodyfikowana próba Whiteside'a jest szybką, technicznie prostą i taną metodą w ocenie normalności wydzieliny gruczołu mlekowego krowy. Przez pojęcie to rozumieć należy stan podrażnienia wymienia, w wyniku którego dochodzi do zwiększenia liczby komórek somatycznych w mleku. W opracowaniu oryginalnym, próba służyła do oceny wydzieliny płatowej lub wymieniowej i polegała na stosowaniu 2 ml 1 N NaOH, który mieszano z 10 ml badanego mleka. Wytworzenie się śluzowato-ciągłej zawiesiny po zmieszaniu płynów określano jako wynik dodatni (9). Modyfikacja próby polegała na zastosowaniu 1 kropli 1 N NaOH w połączeniu z 5 kroplami wydzieliny gruczołowej stale mieszanych przez okres 20 sekund. Natężenie odczynu określano wg ilości pojawiających się strąków i stopnia zmętnienia zawiesiny (3).

Z dalszych badań wynikało, że metoda może być stosowana również do badania mleka zbiorczego (8). Ponieważ chłodzenie mleka w niskim stopniu intensyfikuje odczyn, zastosowano 2 krople 1 N NaOH w połączeniu z 5 kroplami badanego mleka. Uzyskano w ten sposób odczyn bardziej czytelny i wiarygodne w odniesieniu do rzeczywistej liczby komórek somatycznych w badanej próbce (cyt. 8). Do próby nie nadaje się mleko po przegotowaniu oraz z dodatkiem płynów konserwujących w postaci formaliny, chlorku rtęci i dwuchromianu potasu (7).

Zgodnie z Instrukcją Ministerstwa Rolnictwa, Leśnictwa i Gospodarki Żywnościowej Departamentu Weterynarii o powszechnym zwalczaniu *mastitis* w Polsce, do określania liczby komórek somatycznych w mleku jako wskaźnika stanu podrażnienia wymienia, może być stosowana próba Whiteside'a (1). Do próby tej, wg PN-77/86031 można używać mleka świeżego z dodatkiem środka konserwującego w postaci gliceryny i kwasu borowego (5).

Jak wynika z obserwacji własnych, uzyskanych w 1987 r., wyniki próby Whiteside'a z próbkami mleka z sektora indywidualnego woj. gdańskiego wykazały w 5% odczyn dodatni (2). Tak niski odsetek odczynów dodatnich nasunął przypuszczenie o nieprawidłowościach wynikających ze stosowania środka konserwującego w mleku.

Celem pracy było określenie współistnienia wyników badanych próbek mleka w próbie Whiteside'a w obecności płynu konserwującego w postaci gliceryny i kwasu borowego oraz tych samych próbek — pozbawionych ww. środka.

Material i metody

Badania wykonano z 381 próbkami świeżego mleka płatowego pozyskanego losowo od krów rasy ncb sektora uspołecznionego. Z badań wyłączono próbki od krów znajdujących się 6 tygodni przed i po wycieleniu. Z każdą próbką wykonano równoległe badanie porównawcze metodą Whiteside'a, stosując w jednej z nich dodatek środka konserwującego. Badania wykonano w dniu pobrania próbek.

Przygotowanie płynu konserwującego: kwas borowy cz. d. a. 50,00 g, gliceryna cz. d. a. 10,00 g i woda destylowana ad 1000 cm³. Po starannym wymieszaniu komponentów, podgrzaniu do temp. 50–60°C i ostudzeniu, płyn dodawano do mleka w stosunku 1:10 (8).

Wykonanie próby. Zakraplaczem nanoszono 5 kropli dobrze wymieszanego mleka na płytkę o ciemnym tle, dodając 2 krople 1 N NaOH. Po dokładnym wymieszaniu pręcikiem, mieszaninę rozprowadzano na powierzchni około 2,5 cm², dokonując odczytu po około 25 sekundach od momentu połączenia komponentów.

Sposób odczytywania wyników podano w tab. 1.

Rachunek statystyczny. Obliczenia matematyczno-statystyczne uwzględniały test t — Studenta i test chi — kwadrat (6).

Wyniki i omówienie

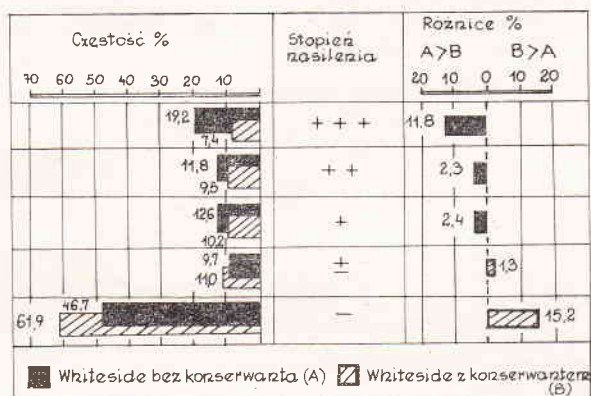
Strukturę nasilenia uzyskanych wyników próbek mleka badanego metodą Whiteside'a przedstawia tab. 2 oraz ryc. 1. Z danych tych wynika, że na ogólną liczbę 381 próbek, zaistniały różnice liczebne w częstości natężenia odczynów w zależności od obecności płynu kon-

Tab. 1. Sposób odczytywania wyników próby Whiteside'a

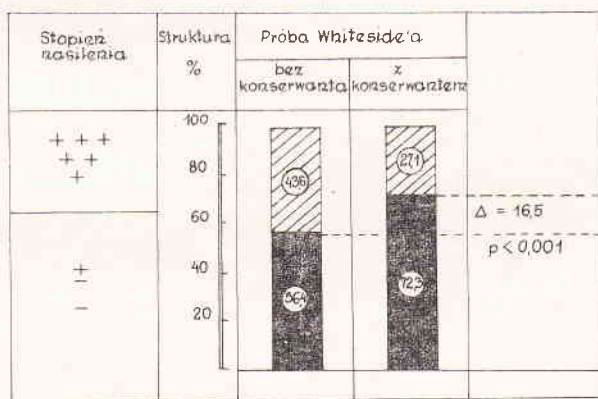
Wynik	Opis próby	Liczba komórek w tys./cm ³
Ujemny	brak zgęstnienia, mieszanina mleczna	< 500
+		
Wątpliwy	drobne zgęstnienia, mieszanina mleczna	500 - 1000
+		
Słabo dodatni	zstępnie wyraźne, mieszanina jeszcze mleczna	1000 - 2000
++		
Dodatni	duże i liczne zgęstnienia, zawiesina wodnista - mleczna	1500 - 2000 i >
+++		
Silnie dodatni	duże i liczne zgęstnienia, mieszanina wodnista	3000 i >

Tab. 2. Struktura nasilenia stopnia odczynów próby Whiteside'a z mlekiem zawierającym i pozbawionym płynu konserwującego

Stopień natężenia	liczba próbek		% próbek	
	środek konserwujący: gliceryna i kwas borowy			
	brak	obecny	brak	obecny
+++	73	28	19,2	7,4
++	45	36	11,8	9,5
+	48	39	12,6	10,2
+ -	37	42	9,7	11,0
-	178	236	46,7	61,9
Razem	381	381	100,0	100,0



Ryc. 1. Częstość oraz różnice stopni nasilenia odczynów próby Whiteside'a w mleku w zależności od obecności środka konserwującego



Ryc. 2. Różnice statystyczne wyników próby Whiteside'a uzyskanych z mlekiem zawierającym i pozbawionym konserwantu gliceryno-borowego

serwującego. W odczynach silnie dodatnich, dodatnich oraz słabo dodatnich, jego obecność wpłynęła na obniżenie stopnia natężenia odczynów odpowiednio o 11,8%, 2,3% i 2,4%. Natomiast w grupie wyników wątpliwych i ujemnych, obecność środka konserwującego spowodowała wzrost ich liczebności o 1,3% i 15,2%. Różnice procentowe w sposób graficzny ilustruje ryc. 1 i 2. Wynika z nich, że łączna liczba odczynów dodatnich próby z mlekiem bez środka konserwującego wynosiła $43,6 \pm 2,54\%$, natomiast analogiczne wyniki dla mleka z pł-

Próba Whiteside'a	bez konserwantu					Razem	
	-	±	+	++	+++		
z konserwantem	+++				28	28	
	++			10		26	
	+			12	16	11	39
	±		6	19	12	5	42
	-	178	31	17	7	3	236
Razem	178	37	48	45	73	381	

Ryc. 3. Diagram współlistnienia wyników uzyskanych w próbie Whiteside'a

Wyniki	n	Częstość [%]
+++ ++ + ±	56	14,7
-	178	46,7
Zgodność wyników	234	61,4
Próba Whiteside'a z konserwantem	Wykazano jako -	15,2
	mniejszy stopień nasilenia	23,4
	Razem	38,6
Ogółem	381	

Ryc. 4. Współlistnienie wyników uzyskanych w próbie Whiteside'a z mlekiem w zależności od obecności środka konserwującego

nem konserwującym kształtowały się na poziomie $27,1 \pm 2,28\%$. Odpowiednie dane procentowe dla obydwu grup wynoszą 56,4% i 72,3%. Innymi słowy, w próbie Whiteside'a z mlekiem zawierającym płyn konserwujący, częściej wystąpiły wyniki ujemne i wątpliwe wyrażone liczbą 16,5%. W próbkach mleka pozbawionych środka konserwującego, stwierdzono wyższą liczebność odczynów oznaczonych jako +, ++ i +++, które określono również na poziomie 16,5%. Różnica ta poddana weryfikacji statystycznej testem 'u', jest istotna przy $p < 0,001$.

Ponieważ analiza różnic częstości występowania nasilenia odczynów próby Whiteside'a jest metodą mało precyzyjną, zastosowano metodę współlistnienia wyników, którą ilustruje diagram ryc. 3. Wynika z niej, że zgodność wyników zastosowanej metody reprezentują liczebności próbek mieszczące się na głównej przekątnej diagramu. Dane te oraz ryc. 4 wskazują, iż wyniki zgodne uzyskano łącznie w 61,4%, co odpowiada liczbie 234 próbek. Obejmuje ona 56 próbek (14,7%), z którymi uzyskano odczyny dodatnie i wątpliwe oraz 178 próbek (56,7%), gdzie wyniki badania określono jako ujemne.

Pod główną przekątną diagramu (ryc. 3) znajduje się 38,6% wyników ($n=147$), które są niezgodne w porównaniu z danymi uzyskanymi z mlekiem zawierającym i pozbawionym płynu konserwującego. Odsetek ten obejmuje 15,2% odczynów ujemnych z 58 próbami mleka zawierającego środek konserwujący. Wyniki badań tych samych próbek, ale bez płynu konserwującego, pozwoliły stwierdzić: 31 odczynów wątpliwych, 17 słabo dodatnich, 7 dodatnich oraz 3 silnie dodatnie.

W podobny sposób obecność środka konserwującego wpłynęła na obniżenie natężenia odczynów dodatnich próby Whiteside'a w 89 próbkach, co stanowi 23,4% uzyskanych wyników. Jak wynika z ryc. 3 — 19 odczynów dodatnich (+) oceniono jako wątpliwe (+-), 16 dodatnich (++) jako słabo dodatnie (+), 26 silnie dodatnich (+++) jako dodatnie. W pewnej liczbie badanych próbek degradacja odczynów była znaczniejsza, bowiem 12 wyników dodatnich (++) oceniono jako wątpliwe (+-), 11 silnie dodatnich jako słabo dodatnie (+), a 5 próbek mleka silnie dodatnich (+++) reagowało w obecności płynu konserwującego jako odczynowy wątpliwy (+-).

Z przeprowadzonych badań wynika, że obecność płynu konserwującego w postaci gliceryny i kwasu borowego w próbkach mleka badanego metodą Whiteside'a obniża czułość próby.

Uwzględniając zasady współistnienia, wg których oceniono zgodność uzyskanych wyników stwierdzono, że odczyny z mlekiem zawierającym środek konserwujący w postaci gliceryny i kwasu borowego wykazały w 38,6% wyniki niezgodne. Oceniono je w stosunku do analogicznej liczby badanych próbek pozbawionych środka konserwującego. Liczba ta obejmuje 15,2% wyników fałszywie ujemnych oraz 23,4% wyników zaniżonych tj. o mniejszym stopniu nasilenia odczynów.

Analiza częstości występowania tych odczynów pozwoliła wykazać stopień niezgodności zaledwie na poziomie 16,5%.

Ocena wartości diagnostycznej próby Whiteside'a z mlekiem zawierającym środek konserwujący w odniesieniu do referencyjnej metody oznaczania liczby komórek somatycznych wg Prescott-Breeda, stanowi przedmiot osobnego opracowania.

Wnio ski

Mleko zawierające płyn konserwujący w postaci gliceryny i kwasu borowego nie nadaje się do badania w próbie Whiteside'a. Wykazana niezgodność obejmująca 38,6% wyników utrudnia prawidłową ocenę normalności mleka oraz prowadzić może do mylnej interpretacji stanu zdrowotnego gruczołów mlekowych krów i utrudniać zwalczanie *mastitis*.

Piśmiennictwo

1. Instrukcja nr 1/86 Min. Rol. Leś. Gosp. Żyw. Dep. Wet. gsp. n. 4515 w — 3/86 z dn. 21.10.1986 r.
2. Kurek C.: Sprawozdanie ze zwalczania mastiti w woj. gdańskim w latach 1983—1987. ZHW Gdańsk, 1987
3. Murphy J. M., Hanson J. J.: Cornell Vet. 31, 47, 1941.
4. PN-81/A-86002 Mleko surowe do skupu.
5. PN-77/A-86031 Mleko i przetwory mleczne. Badania mikrobiologiczne.
6. Puchalski T.: Statystyka. PWN, Warszawa 1969.
7. Shalm O. W., Carröl E. J., Jain N. C.: Bovine mastitis, Lea and Febiger, Philadelphia 1971.
8. Temple H. C.: The modified Whiteside test. U. S. Dep. Health, Education and Welfare. Cincinnati, Ohio 1970.
9. Whiteside W. H.: Canad. Publ. Health J. 30, 44, 1939.

Adres autora: doc. dr hab. Czesław Kurek, ul. Batorego 37c/34, 80-251 Gdańsk 6

Курек Ч., Кацшинский М. — Сосуществование результатов пробы Уайтсайда в зависимости от наличия в молоке консервирующей жидкости, содержащей глицерин и борную кислоту

Определили сосуществование 381 результата проб молока, исследуемого методом Уайтсайда, содержащего консервирующее средство в виде глицерина и борной кислоты. Для сравнительных целей исследовали те же самые пробы без консервирующего средства. Отметили, что сосуществование совпадающих результатов видно было в 61,4%. Процент несовпадающих 38,6% реакции охватывал 15,2% мнимо отрицательных результатов и 23,4% заниженных результатов.

Отметили, что молоко с добавкой глицерино-борного консерванта не пригодно к оценке в пробе Уайтсайда. Наличие консервирующего средства может вести к ошибочной оценке нормальности молока, неправильной интерпретации состояния здоровья молочных желез коров и осложнять борьбу с маститом.

Kurek C., Kacprzyński M. — Results of Whiteside's test with milk containing conservative additions

Employing Whiteside's test 381 samples of milk containing conservative additions (glycerol and boric acid) or not (control) have been tested. Consistent results were obtained only in 61.4%. Inconsistent findings comprised 15.2% of false negative and 23.4% of lowered results. It was found that milk with the conservative preparations should not be used in Whiteside's test. The presence of those substances might lead to false assessment of milk, inadequate evaluation of the state of udders, and therefore to hamper to combat mastitis.

CORRIER D. E., HOLT P., MOLLENHAUER H. H.: Regulacja fagocytozy erytrocytów owcy przez makrofagi myszy pod wpływem toksyny T2. (Regulation of murine macrophage phagocytosis of sheep erythrocytes by T-2 toxin). Am. J. Vet. Res. 48, 1304-1307, 1987 (8)

Toksynę T2 *Fusarium* zastosowano u myszek w dawce 4 mg/kg uczulonych i nieuczulonych na krwinki czerwone owcy. Wykazano, że toksyna nie wpływa na żywotność i aktywność fagocytarną makrofagów otrzewnowych myszek nieuczulonych. Znamienny wzrost aktywności fagocytarnej wystąpił u myszy uczulonych. Ta aktywność została obniżona przez toksynę T2 zastosowaną przed uczuleniem. Toksyna *Fusarium* powoduje bowiem martwicę limfocytów oraz obniża istotnie masę grasicy i śledziony.

G.