

PORÓWNAWCZA OCENA ZAWARTOŚCI SKŁADNIKÓW KOMÓRKOWYCH W MLEKU PRZY UŻYCIU ODCZYNNIKA MASTIRAPID I METODY PRESCOTT-BREEDA

Stanisław Tarkiewicz

Katedra Położnictwa i Patologii Rozrodu Wydziału Weterynaryjnego
WSR w Lublinie

Kierownik: doc. dr Stanisław Tarkiewicz

Podstawą prawidłowego zwalczania stanów zapalnych gruczołu mlekowego, a w szczególności procesów przebiegających bez objawów klinicznych, jest zastosowanie odpowiednich metod rozpoznawania. Obok badania klinicznego i bakteriologicznego istotne znaczenie ma kontrola stanu czynnościowego gruczołu mlekowego, polegająca na ilościowym i jakościowym oznaczaniu zawartości elementów komórkowych w wydzielinie mlecznej. Obok pracochłonnej metody ilościowego oznaczania zawartości elementów morfologicznych wg Prescott-Breeda [1], powszechne zastosowanie znalazły szybkie metody jakościowej oceny wydzieliny gruczołu mlekowego. Najbardziej powszechne zastosowanie znalazła metoda Schalma-Noorlandera [2], tzw. test kalifornijski, lub odczyn indykator. Wzrost ilości komórek w mleku powyżej normy uznanej za fizjologiczną charakteryzuje się różnym stopniem żelifikacji mieszaniny mleka i odczynnika, a zmiana pH odpowiednim zabarwieniem tej mieszaniny. Wszystko to wskazuje na zaburzenie stanu czynnościowego ćwiartki gruczołu mlekowego, z której pochodzi zmieniona w ten sposób wydzielina. Do badań tego typu nie nadaje się wydzielina gruczołu mlekowego tuż po porodzie w okresie siarowym oraz przed zasuszeniem, jak również wydzielina długo dojących się nieplodnych krów. Wartość metod szybkich najlepiej można sprawdzić na podstawie równoczesnych badań mleka metodą Prescott-Breeda i odczynu komórkowego. Badania porównawcze mają szczególne znaczenie przy ocenie odczynnika nowo wprowadzonego do praktyki, jak również nowych serii odczynnika znajdującego się na rynku.

Obserwacje oparte na dużym materiale, poczynione przez wielu autorów, wskazują, że dodatni wynik testu komórkowego, objawiający się zgęstnieniem mieszaniny, nie zależy wprost od ilości komórek znajdują-

cych się w badanym mleku, lecz również od innych, nie poznanych dotąd czynników.

Przytoczone względy wskazują na potrzebę możliwie jak najszerszych badań mających na celu ocenę zarówno metody, jak przydatności używanego odczynnika.

MATERIAŁ I METODY

Badania porównawcze wykonano na dużym materiale, obejmującym 5075 próbek mleka pochodzącego z takiej samej ilości ćwiartek wymienia krów leczonych w Klinice Położniczej Wydziału Weterynaryjnego WSR w Lublinie w latach 1967-1969. Badaniu poddano zarówno próbki z wydzieliną pochodzącą z ćwiartek zajętych zapalnym procesem chorobowym, jak również z pozostałych, bez widocznych zmian zapalnych.

Wydzielinę gruczołu mlekowego do badań metodą Prescott-Breeda, po dokładnym wymieszaniu, pobierano z próbki przy pomocy mikropipety w ilości 0,01 ml, przenoszono na szkiełko podstawowe i rozmazywano równomiernie na powierzchni 1 cm², uprzednio oznaczonej. Preparat po wyschnięciu odtłuszczano przy pomocy ksylołu, utrwalano w absolutnym alkoholu, a następnie barwiono metodą Giemsy. Komórki liczone w 10 polach, po trzy pola na obwodzie i cztery pola pośrodku, przy użyciu obiektywu immersyjnego i okularu 8× lub 10×.

Ilość komórek wyliczano ze wzoru

$$\text{ilość komórek w ml} = k \times f$$

gdzie:

k = ilość znalezionych komórek w 10 polach widzenia,

f = współczynnik (zależny od optyki mikroskopu).

$$f = \frac{d}{m \cdot r^2 \pi \cdot g}$$

gdzie:

d = powierzchnia rozmazu,

m = ilość rozm. mleka,

r = średnica pola widzenia,

g = ilość obliczonych pól widzenia.

Z przedstawionego wzoru f dla mikroskopu z okulem 8× = 30 000, a z okulem 10× = 25 000.

Zależnie od użytego okularu ilość znalezionych komórek mnożono przez 30 000 lub 25 000 i w ten sposób otrzymywano ilość komórek w ml badanej wydzieliny gruczołu mlekowego.

Odczyn komorkowy wykonywano przy pomocy przeznaczonych do tego tacek, przy użyciu odczynnika krajowego Mastirapid, zawierającego jako detergent laurylosiarczan sodu, wskaźnik — purpurę bromokrezolową.

Tabela 1

Wyniki badań porównawczych ilości komórek w mleku wg metody Prescott-Breeda i testu komórkowego

Ilość komórek w mleku wg Prescott-Breeda	Brak komórek w obrazie mikroskopowym		Od 25 do 100 tys. komórek w 1 ml mleka		Od 125 do 300 tys. komórek w 1 ml mleka		Od 325 do 500 tys. komórek w 1 ml mleka		Od 525 do 1 miliona komórek w 1 ml mleka		Powyżej 1 miliona komórek w 1 ml mleka	
	ilość badanych prób	%	ilość badanych prób	%	ilość badanych prób	%	ilość badanych prób	%	ilość badanych prób	%	ilość badanych prób	%
—	550	50,5	337	68,5	246	45,1	106	36,9	149	17,4	—	—
±	401	36,7	86	17,5	87	15,9	32	11,2	42	4,9	12	0,6
+	139	12,8	66	13,4	189	34,4	111	38,7	184	21,5	179	9,9
++	—	—	3	0,6	18	3,3	35	12,2	446	52,1	386	21,4
+++	—	—	—	—	7	1,3	3	1,0	35	4,1	1226	68,1
Razem	1090	100	492	100	547	100	287	100	856	100	1803	100

WYNIKI

Wyniki wykonanych badań zestawiono w 2 załączonych tabelach (tab. 1 i tab. 2).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Stosunkowo dużą zgodność wyników, 87,2% (tab. 1), otrzymano w grupie, w której metodą Prescott-Breeda nie znaleziono w rozmazie komórek, a które badane testem komórkowym dały wynik ujemny lub wątpliwy. Z próbkami zawierającymi 25 000 do 100 000 komórek w 1 ml, test komórkowy w 83% był ujemny lub wątpliwy, przy zawartości od 125 do 300 tys. w 61% przypadków test był ujemny lub wątpliwy, a przy zawartości 325 tys. do 500 tys. w 22,3% test był ujemny lub wątpliwy. W grupie próbek, w której ilość komórek w 1 ml wydzieliny przekraczała 1 milion, otrzymano tylko 0,6% wyników wątpliwych testu komórkowego, nie zanotowano zaś wyników ujemnych.

Otrzymane wyniki zestawione w tabeli 2 pokrywają się z wynikami Wiśniowskiego i Grajewskiego [4], którzy wykonali również badania po-

Tabela 2

Wyniki badań testu komórkowego przy zawartości w 1 ml wydzieliny do 500 tys. i ponad 500 tys. komórek według Prescott-Breeda

Wynik testu komórkowe- go	Ilość komórek w mleku (Prescott-Breed)				Razem prób
	do 500 tys. w 1 ml		ponad 500 tys. w 1 ml		
	ilość prób	%	ilość prób	%	
—	1239	89,3	149	10,7	1388
±	606	91,8	54	8,2	660
+	505	58,2	363	41,8	868
++	56	6,3	832	93,7	888
+++	10	0,8	1261	99,2	1271
Razem	2416		2659		

równawcze testu komórkowego przy użyciu odczynnika Mastirapid i metody Prescott-Breeda. Wymienieni autorzy podzielili badane próbki na dwie grupy, a mianowicie: na zawierające do 500 tys. komórek w 1 ml oraz powyżej 500 tys. Podobnie nasze zestawienie zawarte w tabeli 2 wskazuje, że badane próbki zawierające do 500 tys. komórek w 1 ml wydzieliny w 89,3% przypadków dały wynik ujemny testu komórkowego, w porównaniu do 95,5% przypadków w badaniach Wiśniowskiego i Grajewskiego. W grupie próbek zawierających ponad 500 tys. komórek w 1 ml wydzieliny, wymienieni autorzy otrzymali w 97,3% przypadków dodatni wynik testu komórkowego (+++). W naszych badaniach wynik dodatni (+++) otrzymaliśmy w 99,2% przypadków.

WNIOSKI

1. Badania porównawcze testu komórkowego odczynnikiem Mastirapid i metodą Prescott-Breeda wskazują na praktyczną przydatność tego testu dla oceny stanu czynnościowego wymienia.

2. Największą zgodność wykazują obie próby przy zawartości komórek do 500 tys. oraz powyżej 500 tys. komórek w 1 ml wydzieliny.

PIŚMIENNICTWO

1. Prescott S. C., Breed R. S.: The determination of the number of body cells in milk by a direct method. J. infect. Dis. 7, 632, 1910.
2. Schalm O. W., Noorlander D. O.: Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. J. Am. vet. med. Ass. 130, 199, 1957.
3. Tarkiewicz S.: Ocena porównawcza mikroskopowego obrazu komórkowego mleka i testu komórkowego. VI. Zesz. probl. Post. Nauk rol. 95, 323, 1969/1970.
4. Wiśniowski J., Grajewski H.: Comparative studies on the diagnostic value of Mastirapid used for the cell count in milk. Bull. vet. Inst. Puławy 9, 3, 84, 1965. Wartość diagnostyczna preparatu Mastirapid (Biowet) w pośrednim, szacunkowym oznaczaniu komórek w mleku w stanach zapalnych gruczołu mlecznego krów. Zesz. probl. Post. Nauk rol. VI. 95, 1969/1970.

C. Таркевич

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ
В МОЛОКЕ ПРИ ПОМОЩИ РЕАГЕНТА „МАСТИРАПИД” И МЕТОДА
ПРЕСКОТТ-БРИДА

Резюме

Исследовали 5075 образцов молока с целью определения диагностической ценности реагента „Мастирапид” в клеточном тесте (калифорнийский маститный тест). Итоги клеточного теста сравнивали с методом Прескотт-Брида. Самое большое сходство получалось в отрицательных (89,3%), а еще больше в положительных (99,2%).

S. Tarkiewicz

COMPARATIVE ESTIMATION OF CONTENT OF CELL ELEMENTS IN MILK
BY THE USE OF MASTIRAPID REAGENT (CMT) AND PRESCOTT-BREED
METHOD

Summary

5075 milk samples were examined in order to estimate the diagnostic value of the Mastirapid reagent applied for diagnosis of mastitis of cows with California Mastitis Test. The results of the indirect test were compared with the Prescott-Breed method. The highest accordance of the Mastirapid test with the microscopic findings has been found in negative reactions (89.3%) and in strong positive reactions (99.2%).