

Mitte müügiks.

Autorilt.

Eraldine äratõmme ajakirjast „EESTI ARST“ 1927, nr. 7.

(Tartu Ülikooli bakterioloogia-kabinetist. Juhataja: prof. K. SchLOSSMANN).

**Piima väärtuse määramisest mikrobioloogiliste meetodeiga.**

Dr. L. Pääsuke.

Sõjaväe keskhaigemaja ja keemilis-bakterioloogilise laboratooriumi juhataja.

Värske ja puhas piim on kahtlemata väärtuslikum toiduaineist, mille aset ei suuda täita lastetoitmises ükski teine aine. Kahjuks on aga müügil saadav lehmapiim alati rikas mitmekesisist mikroobest, keda võiks liigitada kaheks grupiks: 1) mikroobid, kes pääsevad piima lehma organismist ja piimanäärmeist, 2) mikroobid, kes satuvad piima kas lüpsmise ajal või pärast lüpsmist.

Arvulised uurimised on tõendanud, et mikroobide arv värskes piimas on lehma udara ja piimakanalite tervislikust seisundist ja puhtusest, lüpsja käte, riiete, õhu, riistade jne. puhtusest. Seisnud piima mikroobide arv on lehv ajast kui kaua ja missuguseis tingimuis seisis piim pärast lüpsmist.

Ilmakahtlemata satub suurem osa mikroobest piimasse pärast lüpsmist ja ja uurimused näitavad, et piimas leiduvate mikroobide liigid varieeruvad ligikaudu samuti kui loomatoidus, looma sooltes, piimariistades ja lüpsja käte küljes leiduvad mikroobid. Puhtus piimaga ümberkäimisel ja t<sup>o</sup>, mille juures teda alal hoitakse, on tähtsamad faktorid, millest on lehv piima mikroobide hulka. Sellega oleks väärtusliku ja puhta piima saamiseks piimatalitusis puhtus esimese järgu tähtsusega. Kahjuks peame tunnistama, et meil jääb sellel alal veel palju soovida.

Tervisele kardetavad muutused tekivad piimas selle transportimisel, erilisel soojal aastaajal, mida esile kutsuvad kiirelt sigivad mikroobid. Viimaste produtseeritud toksilised ained ja happed on sageli lastele surmavate sooltehaiguste põhjuseks. Selle ärahoidmiseks on transportitava piima külmashoidmine möödapääsemata tarvidus.

Piima väärtuse hindamiseks tarvitatakse uuemal ajal mikroobide üldarvu määramist, andes sellele suurt tähtsust. Selle kõrval tarvitatakse uuemal ajal, näit. Inglismaal ja Ameerikas ikka rohkem ja rohkem *bact. coli* tiitri kindlaks määramist, mille põhjal võib oletada loomade ja inimeste väljaheidete ja neis viibivate patogeensete mikroobide pääsemist piimasse. Niihästi mikroobide üldarvu kui ka *b. coli* tiitri määramine ei suuda olla absoluutseks indikaatoriks piimas viibivate patogeensete mikroobide kohta, kuid praktiliseks otstarbeks on nad võrdlemisi suure väärtusega ja võimaldavad kiiret orienteerumist. Ülal tähendatud kahe meetodi kõrval peaks tingimata tarvitusele võtma tuberkuloosibatsillide uurimist piimas, tarvitades selleks katseid merisigadega.

Bakterite üldarvu määramisel tuleb arvestada asjaoluga, et kõik piimas leiduvad mikroobid ei ole ühteviisi hädaohtlikud. Ühed neist, viibides piimas väiksel arvul, võivad produtseerida suurel hulgal toksilisi aineid, kuna teised, vaatamata oma suure arvu peale, on vähe kahjulikud piimatarvitajale. Paljud uurimused tõendasid, et laste akuutsed mao-sooltehaigused esinevad nimelt siis kui piimas leidub mäda ja püogeenseid streptokokke. Suure hulga mädarakkude viibimine piimas on alati seotud udara põletiku protsessesega, mida esile kutsuvad peamiselt streptokokid. Peab aga tähendama, et hariliku uurimismeetodiga ei ole võimalik differentsida patogeenseid streptokokke mitte-patogeenseist. Mikroskoopiline piimauurimine mädarakkude suhtes on tingimata tarvilik siis, kui piima antakse lastele, kes alla 9 kuud vanad.

2

Tartu Riikliku Ülikooli  
Raamatukogu

126607

ARHIIVKOGU

Et vähendada mikroobide hulka piimas ja sellega tõsta piima väärtust, võeti tarvitusele piima pastöriseerimine, mida tarvitatakse laialdasemas ulatuses Ameerikas ja Inglismaal. Toitmise katsed lastega näitavad, et pastöriseeritud piim kutsub esile märksa vähema protsendi kõhuhaigusi, kui toores piim. Pastöriseeritud piim võib aga saada kahjulikuks ja nimelt neil juhtudel, kui pastöriseerida piima, mis on juba kauemat aega seisnud ja milles viibib suuremal hulgal bakteriaalseid toksiine. Viimased on väga sageli resistentsed soojendamisele (pastöriseerimisele). Peale selle tuleb veel arvestada asjaoluga, et väga paljud mikroobest ei hävi pastöriseerimisel tarvitatavas soojuses ja võivad hiljem sigima hakata.

Sellest näeme, et mikroobide üldarvu määramist peab tingimata toimetama enne pastöriseerimist, iseäranis siis, kui piima tarvitatakse toiduks nõrkadele lastele. Piima pastöriseerimine, kui seda toimetatakse reeglipäraselt, võib ära hoida paljude nakkushaiguste, näit. kõhutüüfuse, düsenteria, sarlakite, difteria jt. levimist. Kahjuks ei sure pastöriseerimisel igakord mitte kõik piimas viibivad tuberkuloosibatsillid. Jääb veel lahtiseks küsimus, kas need nõrgenenud virulentsusega tbk.-batsillid ei ole kardetavad väikestele lastele. Katsed tõendasid, et tbk.-batsille sisaldav pastöriseeritud piim võib infitseerida merisigu, kui süstida neile piima kõhuõõnesse. Seisund muutub palju tõsisemaks, kui pastöriseerimine ei ole reeglipäraselt toimetatud. Peale selle langeb piima väärtus pastöriseerimise tagajärjel, sest termolabiilsed vitamiinid muutuvad inaktiivseks ja ühes sellega muutub kahtlemata ka piima valkude kolloidne seisund. Park ja Williams juhiivad tähelepanu sellele, et soendatud piim ei suuda normaalselt arendada kasvava organismi resistentsust, valmistades sellega pinda tbk. nakkusele. Peale selle võivad ilmuda pastöriseeritud piima laste toiduks tarvitusel mitmekesised avitaminoosi sümptomid. Sellest järgneb, et piima pastöriseerimise asemel peaks tarvitusele võtma piima puhtuse eest hoolitsemist selle hoidmisel ja transportimisel, ja tuberkuliinkatsu abil püüda diagnoosida piimalehmade tuberkuloosi, et neid oleks võimalik kiirelt kõrvaldada.

Piima kaudu epideemiate levimises etendavad suurt osa batsillikandjad. Jälgides näit. kõhutüüfuse epideemiade tekkimist selgub, et paljudel korral on lüpsjad ja teised piimaga kokkupuutujad haigust põdenud ja eraldavad batsille. Üldse on tunnustatud tarvilikuks arstlikku järelvaatust ja vastavate bakterioloogiliste analüüside toimetamist neil isikuil, kes piimaga kokku püüvad. Kahjuks ei täideta seda suure tähtsusega tingimust väga paljudes maades ja nende hulgas ka meil.

Et saada üldpilti Tartus müügil oleva piima kohta, tegi mulle prof. K. Schlossmann ülesandeks uurida linna poodides müüdavat piima. Nende ruumiste saavutused tahan lühidalt kokku võtta.

Piima uurimusi toimetasin Tartu Ülikooli bakterioloogia-kabinetis prof. K. Schlossmanni juhatusel. Piimad saadeti uurimiseks Tartu linna tervishoiu osakonna poolt, samuti anti ka sama osakonna poolt tasuta merisead katseiks, mille eest siin kohal tänu avaldan Tartu linnaarstile dr. G. Kroil'ile. Mul läks korda uurida 20 piimakatsu, mis olid võetud Tartu linna turult ja piima poodidest. See katsude arv on võrdlemise väike lõpliku otsuse andmiseks Tartu linna piima väärtuse kohta, kuid arvan, et ka nende uurimiste saavutused tohiksid huvi pakkuda.

Tartu piima on juba varem prof. Happich uurinud, peale selle ilmus tema laboratooriumist kogu rida väitekirju Tartu piima üle. Tähendatud tööd käsitlevad piima uurimist veterinaärarstlikust seisukohast, määrates piimas olevat rasva %, viimase sõltuvust looma tõu ja toiduga jne.

Prof. SchLOSSmann'i ülesandel ettevõetud piima uurimiste peasihiks oli *bact. coli* tiitri ja tbk.-batsillide määramine Tartus müügil olevas segapiimas. Peale selle uurisin piimas viibivate mikroobide üldarvu, katalaasreaktsiooni, reduktaasreaktsiooni, happe kraadi jne.

Piima transportimiseks laboratooriumi tarvitati 250 ccm mahuga kummikorgega steriliseeritud pudeleid. Reaktsioonid ja uurimised toimetati kohe pärast piima laboratooriumi toomist ja üldnõudele vastavas järjekorras. Esimesena tehti katalaaskats, milleks tarvitati Einhorn-Smith'i aparati, kuhu mahutati 15 ccm uuritavat piima ja 5 ccm 1% (kaalu järele)  $H_2O_2$ . Kahe tunni seismise järele 25° C soojuses määrati  $O_2$  hulk. — Reduktaaskatsuks valati katsuklaasi 10 ccm uuritavat piima ja lisandati 0,5 ccm Neisser-Wecksberg'i reaktiivi, mille koostis on järgmine: *methylenblau* 1,0, *alcoholi absol.* 20,0, *aqueae destillatae* 29,0. Niisugune alglahus säilib kaua. Tarvitamiseks lahjendatakse 1,0 ccm alglahust 250 ccm 0,85% NaCl lahuses. Piim ja reaktiiv loksutatakse hästi segi, valatakse peale 2 ccm kõrgune kiht steriliseeritud vaseliinõli ja hoitakse termostaadis 37° C soojuses. Metüleeni reduktsiooni reaktsiooni peab täpsalt jälgima, sest värvi muutumine võib juba mõne minuti järele ilmuda. Reduktsiooni reaktsiooni jälgisin vahetpidamata 7 tunni jooksul, siis juba pikemate vaheaegade järele.

Mikroobide üldarvu kindlaksmääramist toimetasin järgmiselt: iga piimakatsu tarvis võeti 3 kolbi, mis sisaldasid igaüks 100 ccm kraanivett ja steriliseeriti autoklaavis. Kolvile nr. 1 lisandati 1 cm<sup>3</sup> hästi läbiloksutatud piima, seega saadi lahendus 1:100 võrra, kolvile nr. 2 1 cm<sup>3</sup> kolvist nr. 1, seega saadi lahendus 1:10000 võrra ja kolvile nr. 3 võeti 1 cm<sup>3</sup> kolvist nr. 2, lahendus 1:100000 võrra. Piima lahendused kolves loksutatakse hästi segi ja igast kolvist külvatakse 1 cm<sup>3</sup> lahendust 10 cm<sup>3</sup> 2% agaarisõõtlele 45° C soojuses. Katsuklaasid loksutatakse hästi segi ja sööde ühes külvatud piimaga valatakse Petri kausesse. Kausid mahutatakse termostaati 37° C. 48-tunnilise kasvu järele loendati Wolffhügel'i aparaadiga tekkinud mikroobide pesad, mis näitab külvatud piimas viibivate eluvõimeliste mikroobide ligikaudset arvu. Korrutame saadud arve vastavalt 100-, 10000-, 1000000-ga, siis saame mikroobide arvud uuritavas piimas.

Keskmise arvu saamiseks jagatakse kolmel kausil kasvanud pesade koguarvu kolmega.

Peab lisama, et ülaltähendatud meetod ei ole absoluutselt täpne, sest kõigest uuritavas piimas viibivaist mikroobest ei arene kunstlikul söõtmel mikroobi pesad ja mõni pesa võib areneda mitmest kokkuleepunud mikroobist. Selle peale vaatamata võib seda meetodit küllalt täpsaks lugeda sanitaarseks uurimiseks.

*Bact. coli* tiitri määramist toimetati Calmette ja Nègre järele. Selleks võetakse järgmise koostisega söõde: 500,0 lihavett, 10,0 peptooni, 10,0 NaCl, 2,5 glükoosi.

Lakmüstinktuuri lisandatakse kuni söõtme sinistumiseni. Saadud lakmuspuljong-söõtmest valatakse 6 cm<sup>3</sup> igasse katsuklaasi; siis võetakse väikesed katsuklaasid, täidetakse sama söõtmega ja lastakse nad ümberpöörduvalt suurisse katsuklaasesse. Steriliseeritakse 3 päeva järjest, iga kord 30 min. vältel Koch'i aparadis. Igast uuritavast piimast külvatakse nelja katsuklaasi, mis sisaldavad ülaltähendatud söõdet: esimesse 0,5 cm<sup>3</sup> piima, teise 0,5 cm<sup>3</sup> lahjendatud 1:100 võrra piima (0,005 cm<sup>3</sup> piima), kolmandasse 0,1 cm<sup>3</sup> lahjendusest 1:100 võrra (0,001 cm<sup>3</sup> piima) ja neljandasse 1,0 cm<sup>3</sup> lahjendusest 1:10000 võrra (0,0001 cm<sup>3</sup> piima). Katsuklaasid piima külvega hoitakse termostaadis 24 tunni jooksul 37° C soojuses; siis vaadatakse esmakordselt tagajärjed: happe tekkimist, mis muudab söõtme värvi punaseks, ja gaasi kogumist väikeste katsuklaaside ülemisse ossa. Lastakse veel seista 24 tundi 37° C soojuses ja siis märgitakse lõpptulemused. Nõis klaases, kuhu sattus piimakülviiga vähemalt üks eluvõimeline *bact. coli*, muutub söõde punaseks ja väikeste katsuklaaside ülemisse ossa kogub vähem või rohkem gaasi.

Tbk.-batsilli uurimiseks võeti steriliseeritud kolbi 25 cm<sup>3</sup> hästi segi loksutatud piima ja 50 cm<sup>3</sup> steriliseeritud vett, tsentrifuugiti 20 min. elektritsentrifuugis. Pärast imeti pipetiga pealmine osa ära ja sademest otsiti tbk.-batsille. Selleks

valmistati preparaadid, kuivatati termostaadis, fikseeriti absoluutses metüülalkoholis ja värviti Ziehl-Neelsen'i ja Spengler'i meetodi järele.

Merisigadele süstimiseks võeti tsentrifuugimisel saadud sade, lisandati 3 osa 4 % Na OH lahust, hoiti 1 tund termostaadis 37° C soojuses, loksutades segu 30 minuti järele. Selle järel tsentrifuugiti segu uuesti, imeti ära pealmine osa ja sademele lisandati 4 % HCl kuni lakmuspaber näitas hapu reaktsiooni. Sademele lisandati kuni 2 cm<sup>3</sup> füsioloogilist NaCl lahust ja süstiti meriseale nahaalusi. Katseiks tarvitatud merisigade kaal kõikus 300—400 g vahel. Kaalu kontrolliti iga nädal. Nahaalusi süstimine on piima uurimisel otstarbekohasem kui lihastesse või kõhuhõõnesse süstimine, sest viimaste meetodite tagajärjel võib merisiga kergesti saada surmava nakkuse. 10 nädalat pärast süstimist surmati katseloomad ja uuriti lahkamisel saadud mahlanäärmeid, kopsu, põrna ja neerukudet tbk.-batsillide sisaldavuse suhtes.

Järgnevas tabelis on kokku võetud andmed uurimisel olnud piimakatsudest.

T a b e l.

Piima nr.	Kata-laasi O <sub>2</sub> 2 tundi	Reduk-tsiioon täielik	Bakte-rite arv cm <sup>3</sup>	Coli tiiter — hape ja gaas.								B. tuberc.	
				24 t.				48 t.				Pre-pa-raat	Me-risi-ga.
				0,5	0,005	0,001	0,0001	0,5	0,005	0,001	0,0001		
1.	2,0 cm <sup>3</sup>	3 tundi	2630000	+	—	—	—	+	—	—	—	neg.	neg.
2.	1,5 "	20 "	25200	+	—	—	—	+	—	—	—	"	"
3.	2,8 "	6,5 "	37800	+	—	—	—	+	—	—	—	"	"
4.	2,8 "	6,5 "	88200	+	+	—	—	+	—	—	—	"	"
5.	2,0 "	3 "	2520000	+	+	+	—	+	+	+	—	"	"
6.	1,8 "	5 "	137800	—	—	—	—	+	—	—	—	"	"
7.	3,5 "	2 "	3150000	+	+	—	—	+	+	—	—	"	"
8.	1,5 "	6 "	189000	+	—	—	—	+	—	—	—	"	"
9.	3,3 "	2,5 "	1170000	+	—	—	—	+	+	+	—	"	"
10.	3,0 "	4,5 "	160000	+	—	—	—	+	—	—	—	"	"
11.	6,0 "	1/6 "	2438000	+	+	+	—	+	+	—	—	"	"
12.	3,5 "	15 "	53300	—	—	—	—	+	+	+	+	"	"
13.	6,5 "	1,5 "	5004000	+	—	—	—	+	+	+	+	"	"
14.	3,0 "	4 "	81900	+	—	—	—	+	—	—	—	"	"
15.	6,2 "	1,5 "	2025000	+	—	—	—	+	—	—	—	"	"
16.	2,7 "	2,5 "	810000	+	—	—	—	+	—	—	—	"	"
17.	5,0 "	1,5 "	2130000	+	+	—	—	+	+	—	—	"	"
18.	5,0 "	1,5 "	1202500	+	+	+	—	+	+	—	—	"	"
19.	3,0 "	12 "	47800	—	—	—	—	—	+	+	+	"	"
20.	3,5 "	4 "	303700	+	—	—	—	+	—	—	—	"	"

Saadud tulemused näitavad, et ükski uuritud piimadest ei sisaldanud tbk.-batsille. Uuritud piimakatsude arv on liiga väike selleks, et anda tööoludele vastavat otsust nende batsillide sisalduse suhtes. Selleks peaks toimetama sadandete katsude uurimist, võttes korduvalt piima uurimiseks. Happich'i toimetatud uurimused näitasid, et Tartu turult ja piimapoodidest saadud piimakatsudest sisaldasid ligikaudu 5 % tbk.-batsille.

Mis puutub piimas viibivate mikroobide üldarvusse, siis on selles suhtes fikseeritud eriliselt Ameerika ja Inglise autorite poolt järgmised normid. Pastöriseerimata ehk n. n. toores piim on esimese järgu headusega, kui 1 cm<sup>3</sup> piima ei

sisalda üle 30000 mikroobi, teise järgu väärtusega piimas ei tohi leiduda üle 200000 mikroobi ja kolmanda järgu väärtusega piimas — üle 1500000 mikroobi 1 cm<sup>3</sup>. Võrdleme neid norme meie tabelis märgitud andmeiga, siis näeme, et ainult üks piim (nr. 2) tohiks olla esimese järgu väärtusega, 8 piima teise järgu ja 4 kolmanda järgu väärtusega: ülejäänud 7 piima oleks seega täielikult alaväärtuslised, milledest üks koguni üle 12 miljoni mikroobi ja mõned 2—5 miljonit mikroobe sisaldavad. — Olgu siin kohal tähendatud, et ainult mikroobide üldarvu alusel ei ole võimalik otsustada piima kaudu levitatud nakkushaiguste (köhutüüfus, düsenteria jne.) hädaohtu, sest mõnikord võib mikroobide väikse üldarvuga piim sisaldada patogeenseid mikroobe ja sellega palju kardetavam olla epidemia suhtes, kui teine suurt hulka mitte-patogeenseid mikroobe sisaldav piim.

*B. coli* tiitri suhtes kvalifitseeritakse piima järgmiselt: esimese järgu piim ei tohi sisaldada 0,1 cm<sup>3</sup> *b. coli*'t, teiste sõnadega 0,1 cm<sup>3</sup> piima peab näitama negatiivse *b. coli* tiitri; teise järgu piim peab andma negatiivse tiitri 0,01 cm<sup>3</sup> ja kolmanda järgu piim 0,001 cm<sup>3</sup>. Seda normi aluseks võttes osutusid mõned meie uuritud piimad võrdlemise headeks, kuna teisi võib lugeda otse alaväärtuslikeks. Sel puhul olgu tähendatud, et mikroobide üldarv ja *b. coli* tiiter kõikusid suuremal jaol piimadest paralleelselt.

Vaadates reduktaskatsu saavutust, siis paistab silma, et reduktsioon üldjoonis on kooskõlas piimas leiduva bakterite üldarvuga. Sellega on ka seletatav, et reduktsioon meie uuritud piimades kiirelt toimus ja suuremale osale piimadest alaväärtuse tunnistuse annab.

Katalaaskatsu ei saa uurimiste puhul pidada erilisel väärtuslikeks indikaatoriks piima hindamise suhtes. Keskmiselt tekkis rohkem vaba hapnikku (O<sub>2</sub>), neis katsudes, mis sisaldasid suurel arvul mikroobe, kuid täielikumat kooskõla ei ole võimalik konstateerida.

Peaa tähendama, et ülal ettetoodud bioloogilistest piimakatsudest ei jätku selleks, et saada täpsat alust piima kvalifitseerimiseks. Piima väärtuse määramine peab algama piimakarja järelvaatusega loomaarstide poolt, mida peaks toimetama regulaarselt lühema või pikema aja järel. Üldise järelevaatuse kõrval peab toimetama tuberkuliinkatsu lehmadega, et oleks võimalik kõrvaldada tbk.-haigeid loomi ja saada tbk.-idudest vaba piima. Teisest küljest peab rohkem rõhku panema piima hoidmisele ja transportimisele, sest määrinud riistad, milledes hoitakse müügile lastud piim, määrinud ja tolmused ruumid ning üldine mustus ja korratus piimaga ümberkäimisel võivad alguses väga väärtuslike piima kiirelt alaväärtuslikeks muuta.

Ei ole üleliigne tähendada, et meil peaks võimalikult rohkem rõhku pandama nende isikute tervislisele seisundile, kes puutuvad kokku müügile lastava piimaga, et ära hoida üllatusi epideemiliste haiguste edasiandmises piima kaudu. Samuti oleks ka soovitatav, et meil hakkaksid maksuma teatavad üldised normid piima kvalifitseerimiseks bioloogiliste meetodeiga, nii kui see on tarvilisel paljudes teisis mais. —

