

Lyczyński A. — The freezing of boar semen in egg-yolk glucose glycerol diluents.

The investigations have been performed with 31 ejaculates derived from 8 boars, big-white English breed. Semen was taken „on the hand” and the examinations were done only with the semen fractions rich in spermatozoa. There was compared the influence of 25 combinations of the diluents on the motility of spermatozoa after thawing. The diluents contained glucose from 1 to 5% (a concentration increased

every 1%), glycerol from 2—10% (a concentration increased every 2%) and 30 ml of yolk egg. The diluents were centrifugated at 2500—3000 rpm for 15 min. The semen was diluted 1:1 (I) or 1:6—1:7 (II) and then frozen up to 12°C for 2—2.5 hrs without glycerol. Equilibration was done at 5°C within 30—60 min. The semen was frozen in the form of balls. The highest motility (20—40%) of semen was noted in the diluent containing glycerol 2—3%, glucose 2—4% and 30 ml of yolk egg per 100 ml of the diluent.

FIZJOLOGIA I FIZJOPATOLOGIA

MARIAN GRUNDBOECK, KRYSZYNA WILCZYŃSKA-CIEMIĘGA, TERESA WOJTOŃ

Prawidłowe wartości białych krwinek i limfocytów u krów rasy ncb z uwzględnieniem wieku zwierząt, różnych regionów kraju oraz pór roku

Pracownia Patologii Komórkowej, Instytutu Weterynarii w Puławach
Kierownik: doc. dr M. GRUNDBOECK

Wczesne rozpoznawanie białaczki bydła opiera się głównie na badaniu hematologicznym. Zwłaszcza liczba białych krwinek i liczba limfocytów w 1 mm³ krwi oraz procent limfocytów mają tutaj największe znaczenie. Poziom wymienionych krwinek wykazuje pewien zakres fizjologicznych wahań, o czym należy pamiętać przy stwierdzaniu patologicznej leukocytozy względnie limfocytozy bezwzględnej lub względnej. Dlatego tak ważną rzeczą jest opracowanie norm hematologicznych. Rezolucja podjęta na XXXV Konferencji Komitetu OIE w 1967 r. zaleca wszystkim państwom opracowanie takich norm dla poszczególnych ras bydła z uwzględnieniem wieku zwierząt i różnych regionów geograficznych.

Literatura światowa dotycząca parametrów hematologicznych u bydła jest obfita. Również w Polsce podejmowane były badania w tym kierunku między innymi przez Krzymowskiego (4, 5) i Stankiewicza i wsp. (12), jednakże w badaniach tych nie uwzględniono zmian w leukogramie zachodzących z wiekiem u dorosłego bydła. Szereg innych polskich naukow-

ców przy opracowywaniu szczegółowych zagadnień fizjologicznych względnie patologicznych oznaczało również prawidłowe wartości białych krwinek u bydła; jednakże dane te mają najczęściej charakter fragmentaryczny i wykazują ograniczoną przydatność do ogólniejszych stwierdzeń.

Jak wynika z piśmiennictwa na poziom białych krwinek i ich skład procentowy wpływa rasa bydła, warunki środowiskowe i wiek zwierząt. (tab. 1—3). Nadto tab. 4 wskazuje, że nie bez znaczenia jest również pora roku. Dlatego podejmując badania własne postawiono sobie za cel oznaczenie prawidłowych wartości białych krwinek oraz limfocytów u bydła w różnych regionach kraju, z uwzględnieniem wieku zwierząt oraz pory roku.

W pierwszym etapie prac objętym niniejszym doniesieniem ograniczono się do najbardziej rozpowszechnionego w Polsce bydła nizinnego czarno-białego. W przeprowadzonych pracach nie ograniczono się do ilościowego badania białych krwinek i układu limfocytów lecz oznaczono również wartości dla granulocytów,

Tab.1. Liczba białych krwinek w 1 mm³ u bydła w różnych klasach wieku, wg piśmiennictwa

Bydło (rasa)	Państwo	Wiek zwierząt (w latach)														Poz. piśm.
		0-1		1-2		2-3		3-4		4-5		5-6		6-7		
		\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	
Fryzyskie	NRF	10220	2380	9360	2800	8630	1950	7690	1790	7220	1410	7290	1590	6440	1680	13
Fryzyskie	ZSRR	—	—	8030	—	7200	—	6540	—	6600	—	7170	—	7650	—	5
Rasy mleczne	Dania	9200	2050	9100	2150	8600	2050	8200	1900	—	—	7500	1350	—	—	1
Jersey	wyspa Jersey	9560	2240	8840	2110	8090	2350	7330	2370	6660	2280	6180	1890	—	—	12
Czerwono-białe	CSSR	8250	2120	8580	2150	7340	1590	7070	1520	6460	1480	6810	1840	—	—	8
Holsztyńskie	USA	—	—	11000	3200	11400	2100	9350	2000	8150	2000	—	—	7900	1700	10
Holsztyńskie	Francja	9200	—	8420	—	7400	—	6830	—	5770	—	5330	—	5450	—	2
Charolais	Francja	12600	—	12250	—	9920	—	9600	—	9500	—	9200	—	8700	—	2

Tab. 2. Procent limfocytów u bydła w różnych klasach wieku wg piśmiennictwa

Bydło (rasa)	Państwo	Wiek zwierząt (w latach)														Poz. piśm.
		0-1		1-2		2-3		3-4		4-5		5-6		6-7		
		\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	
Fryzyskie	NRF	64,2	8,6	67,3	9,1	57,8	8,6	56,3	9,9	55,9	7,7	55,4	9,4	54,6	9,3	14
Fryzyskie	ZSRR	—	—	64,6	—	63,2	—	58,1	—	57,2	—	54,5	—	51,3	—	6
Rasy mleczne	Dania	78,8	7,7	70,0	9,8	59,6	8,1	55,8	8,1			51,6	9,0			1
Czerwono- białe	CSSR	69,7	—	67,7	—	64,7	—	61,6	—	55,7	—	51,2	—			9
Charolais	Francja	54,9	—	55,3	—	55,0	—	57,1	—	56,2	—	60,0	—	61,0	—	3

monocytów i czerwonych krwinek. Parametry te jednak mające drugorzędne znaczenie w diagnostyce białaczki bydła będą podane w dalszym doniesieniu.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły trzy stada rasy ncb: 1) stado GD z powiatu Leszno Wlkp., 114 sztuk, średnia mleczność 2500 litrów,

2) stado TR z powiatu Przemyśl, 92 sztuki, średnia mleczność 3500 litrów,

3) stado S z powiatu Puławy, 131 sztuk, średnia mleczność 4000 litrów.

siła 9 240, podczas gdy analogiczna wielkość w klasie 7—8 lat osiągała poziom 5 920. W dwu przypadkach między sąsiednimi klasami wieku zamiast spadku zanotowano wzrost ale był on niewielki i statystycznie nieznamienisty. Podobnie zachowywały się średnie w poszczególnych badanych oborach.

Najwyższy poziom białych krwinek stwierdzono w oborze S. za wyjątkiem klasy wieku 5—6 lat. Najniższy poziom natomiast wystąpił

Tab. 3. Liczba limfocytów w 1 mm^3 krwi bydła w różnych klasach wieku wg piśmiennictwa

Bydło (rasa)	Państwo	Wiek zwierząt (w latach)														Poz. piśm.
		0-1		1-2		2-3		3-4		4-5		5-6		6-7		
		\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	
Fryzyskie	NRF	6440	1420	6200	1840	4930	1260	4280	1200	4010	960	3970	940	3460	1040	14
Ncb	NRF	—	—	5230	1120	4810	1280	4290	1190	4180	1020	3900	1100	3670	1040	10
Rasy mleczne	Dania	7300	1750	6300	1650	5000	1250	4600	1200			3800	800			1
Holsztyńskie	USA	—	—	6860	1250	5800	2100	4900	1250	4200	1500			3750	950	11
Jersey	wyspa Jersey	7210	1790	6340	1510	5240	1750	4430	1650	3940	1620	3260	1100			13
Czerwono-białe	CSSR	5750	1790	5820	1920	4750	1160	4360	1320	3600	1080	3490	1280			9
Charolais	Francja	6920	—	6780	—	5450	—	5160	—	5360	—	5540	—	5350	—	2
Hereford	USA	7680	1670	5280	2310	5660	3700	5150	2950	5260	2940	3880	1440	6950	3770	7

Powyższe stada były wolne od gruźlicy i brucelozy. W stadzie z powiatu Puławy stwierdzono inwazję motylicy wątrobowej, jednakże liczba jaj wykazywanych w kale zwierząt była z reguły niewielka.

Krew do badania pobierano dwukrotnie: raz w zimie i raz w lecie. Daty pobrania krwi przypadły w powiecie Leszno na dn. 17.II i 14.VII.1970 r., w powiecie Przemyśl na 5.XII.1969 i 17.VI.1970 oraz w powiecie Puławy na 2.II i 18.VIII.1970.

Krew pobierano z żyły jarzmowej mieszając 5-mililitrową próbkę z 0,05 ml antykoagulantu o składzie: 25 g wersenianu dwusodowego (EDTA), 95 ml wody destylowanej, 5 ml obojętnej formaliny.

Równocześnie sporządzano rozmazy bądź to z krwi świeżej, bądź to bezpośrednio po zmieszaniu jej z antykoagulantem. Liczbę białych krwinek oznaczano w komorze Bürkera na drugi dzień po pobraniu krwinek. Rozmazy barwiono metodą Pappenheima i określano w nich odsetkowy skład leukocytów.

Wyniki

Liczba białych krwinek. Jak widać z tab. 5, wartości średnie leukocytów wykazują, w miarę postępu wieku zwierząt, tendencję spadkową. Wartość średnia dla wszystkich przebadanych zwierząt w wieku do jednego roku wyno-

Tab. 4. Liczba białych krwinek i limfocytów w 1 mm^3 krwi oraz procent limfocytów u bydła w różnych porach roku wg piśmiennictwa

	Wiosna	Lato	Jesień	Zima
Krwinki białe w tysiącach wg Pietrowskiego (8) wg Stankiewicza i wsp. (12)	6840	7200	8010	7450
	8440	—	9440	—
Limfocyty w tysiącach wg Pietrowskiego wg Stankiewicza i wsp.	3540	3290	3900	3770
	4100	—	4180	—
Procent limfocytów wg Pietrowskiego wg Stankiewicza i wsp.	51,72	45,73	48,65	50,64
	49,6	—	42,6	—

w gospodarstwie GD, gdzie uzyskano 12 minimalnych wartości na 16 możliwych.

Wpływ pory roku na poziom leukocytów przedstawiał się niejednorodnie. W gospodarstwie GD wartości zimowe były wyższe niż letnie w zakresie wieku do 6 lat, natomiast u naj-

Tab.5. Liczba białych krwinek i limfocytów w 1 mm³ krwi oraz procent limfocytów u bydła rasy nob z trzech regionów Polski, w zimie i w lecie

Rodzaj badania i pochodzenie bydła	Termin badania (miesiąc)	Wiek zwierząt (w latach)															
		0-1		1-2		2-3		3-4		4-5		5-6		6-7		7-8	
		\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
Białe krwinki																	
Obora GD (pow. Leszno Wlkp.)	Luty	10300	2630	8590	2320	7420	1280	7120	1080	7140	2010	8360	1220	5310	1450	4780	1260
	Lipiec	7020	1500	8030	1490	6500	970	6620	950	6690	1420	5070	110	6110	1450	6020	1430
Obora TR (pow. Przemysł)	grudzień	8240	2590	8480	2200	7630	960	6800	1600	7220	2070	7470	1280	5960	1400	6400	600
	czerwiec	—	—	8100	490	6150	1560	7570	1320	8240	7510	2120	2060	6500	410	7250	2170
Obora S (pow. Puławy)	Luty	11510	2070	10180	2790	9880	2160	9580	2200	7530	900	7450	1580	6080	1180	—	—
	sierpień	8920	3230	10620	2510	9590	2310	9130	3330	—	—	7840	1650	7020	1690	—	—
Razem obory GD,TR,S	zima i lato	9240	2900	9510	2590	8210	2120	8070	2580	7240	1690	7530	1670	6190	1580	5920	2940
Limfocyty																	
Obora GD (pow. Leszno Wlkp.)	Luty	5820	1240	5560	1100	4000	1280	3170	770	3160	820	3370	890	2480	740	2350	—
	Lipiec	3920	940	4060	740	3440	730	3080	730	3120	720	2330	350	2730	560	2730	600
Obora TR (pow. Przemysł)	grudzień	5480	1650	5360	1270	4790	1300	4020	680	4340	1480	3450	510	2670	800	3400	380
	czerwiec	—	—	4180	1060	4380	1040	3890	1130	3520	610	3360	610	3510	410	3070	480
Obora S (pow. Puławy)	Luty	6920	1490	5580	1650	4890	1900	4180	960	3630	330	3600	920	2900	550	—	—
	sierpień	5120	1890	6040	1540	5920	1100	4570	1740	—	—	3610	700	3230	970	—	—
Razem obory GD,TR,S	zima i lato	5500	1370	5280	1540	4510	1350	3900	1280	3540	1060	3520	880	2880	820	2720	580
Procent limfocytów																	
Obora GD (pow. Leszno Wlkp.)	Luty	57,00	3,76	53,90	7,31	52,70	9,23	46,80	1,32	45,30	6,40	42,40	6,12	46,30	7,25	46,30	8,95
	Lipiec	55,60	8,83	51,20	7,87	52,70	8,25	46,70	9,06	46,70	5,39	39,60	4,58	45,70	6,56	46,10	9,70
Obora TR (pow. Przemysł)	grudzień	63,80	9,37	64,10	8,32	61,60	9,43	60,10	6,48	61,20	10,08	47,00	9,22	45,00	8,60	53,00	1,00
	czerwiec	—	—	51,00	10,65	53,80	7,81	54,10	8,72	45,10	3,48	50,60	8,78	54,50	8,89	45,00	9,70
Obora S (pow. Puławy)	Luty	60,50	8,60	56,10	2,01	49,70	6,90	47,60	9,62	48,30	2,73	47,80	7,16	48,20	7,15	—	—
	sierpień	63,00	8,80	56,00	8,95	59,50	7,09	52,00	9,89	—	—	47,00	9,25	44,20	7,85	—	—
Razem obory GD,TR,S	zima i lato	59,70	8,95	56,40	10,12	54,60	9,39	50,50	11,01	49,40	10,40	46,70	8,89	46,20	7,88	46,60	9,39

starszych zwierząt wyższe były wartości letnie. Odmienne przedstawiała się sytuacja w gospodarstwie TR, gdzie bydło w wieku ponad 2 lata wykazało wszędzie wyższe wartości w lecie. Podobnie jak w stadzie TR zachowywała się badana zależność w oborze S, z tym że już powyżej 1 roku górowały wartości letnie nad zimowymi.

Bezwzględna wartość limfocytów. Podobnie jak poziom białych krwinek również liczba limfocytów obniża się z wiekiem. Jak widać z tab. 5 najmłodsza klasa zwierząt wykazuje średnio 5 500 limfocytów w 1 mm³ krwi, natomiast najstarsza tylko 2 720. Spadek wartości ma tu charakter ciągły. Podobnie zachowują się wielkości obliczone dla poszczególnych obór, z tą jednak różnicą, że niekiedy następną klasa wieku zamiast obniżki wykazuje zwiększoną wartość. Przypadki te jednak są dużo rzadsze niż w tabeli białych krwinek i dotyczą one bardzo niewielkich wzrostów wartości.

Porównując wartości w poszczególnych stadach stwierdza się najwyższy poziom limfocytów w oborze S, najniższy zaś w oborze GD, podobnie jak to miało miejsce przy analizie białych krwinek.

Wpływ pory roku na liczbę limfocytów przedstawia się w oborach GD i S podobnie jak to miało miejsce przy białych krwinkach. W gospodarstwie GD dominowały na ogół wartości zimowe, natomiast w gospodarstwie S — letnie. Obora TR wykazuje tu pewne podobieństwo do obory GD. Wykazano w niej wyższe

wartości zimowe za wyjątkiem zwierząt w wieku 5—7 lat.

Względna wartość limfocytów. Podobnie jak wartości bezwzględne, również liczby procentowe limfocytów obniżają się z wiekiem zwierząt. Spadek ten dla średnich dotyczących całego przebadanego materiału mieścił się w granicach 59,7 i 46,2%, a więc wynosił 13,5%. Równomierność i ciągłość spadku tych wartości obliczonych dla poszczególnych obór wykazywała częstokroć zakłócenia, szczególnie w oborze TR. Zwłaszcza w klasie wieku 6—7 lat zanotowano aż czterokrotnie wzrost odsetka limfocytów, najsilniej wyrażony w oborze GD.

W okresie zimowym najwyższe względne wartości limfocytów wystąpiły w gospodarstwie TR, gdzie na 8 klas wieku aż w 6 zanotowano najwyższe wartości. Maksyma letnie nie wykazały większego nagromadzenia się w żadnej z badanych obór.

Wpływ pory roku na odsetek limfocytów nie wykazał zdecydowanego charakteru. W oborze TR górowały na ogół wartości zimowe nad letnimi. W dwu pozostałych oborach różnice między wartościami średnimi w zimie i w lecie były albo niewielkie, albo przewaga nie była zdecydowanie przywiązana do żadnej z uwzględnionych pór roku.

Dyskusja

Porównując uzyskane wartości białych krwinek z analogicznymi liczbami z piśmiennictwa (tab. 1) należy stwierdzić znaczną zbieżność

wartości własnych z niektórymi zagranicznymi. Podobne analogie można stwierdzić przy porównaniu bezwzględnych liczb limfocytów. Zwłaszcza czerwono-białe bydło z CSSR oraz ncb z Niemieckiej Republiki Federalnej wykazują wiele zbliżonych liczb tych komórek. Tylko dla szeregu niskich wartości z obory GD nie można znaleźć odpowiednika w liczbach uzyskanych za granicą.

Wartości określające procent limfocytów wykazują u naszych zwierząt w wieku do 3 lat podobieństwo do Charolaisów francuskich. Zwierzęta w wieku 3—4 lat mają wartości względne podobne jak mleczne bydło duńskie, a u jeszcze starszych sztuk zarysowuje się podobieństwo liczbowe do czerwono-białego bydła czeskosłowackiego. Podobnie jak przy wartościach bezwzględnych, również tutaj szereg krajowych średnich znajdował się niżej poziomu notowanego za granicą.

Należy również omówić wpływ pory roku na poziom uzyskanych wartości. Według Pietrowskiego (tab. 4) wartości leukocytów oraz bezwzględne i względne wartości limfocytów są wyższe w zimie niż w lecie. Zgodność z tym stwierdzeniem wykazują tylko wartości własne uzyskane w gospodarstwie GD, podczas gdy w gospodarstwie TR układ liczb przedstawiał się odwrotnie. Wyraźniejszą zgodność stwierdzono w zakresie bezwzględnego poziomu limfocytów ponieważ nie tylko liczby z gospodarstwa GD lecz również z gospodarstwa TR potwierdzały w znacznej mierze obserwacje Pietrowskiego (8).

Jeśli chodzi o procent limfocytów, to dominacja wartości zimowych nad letnimi została przez nas wyraźnie wykazana tylko w gospodarstwie TR, za wyjątkiem klas wieku 5—7 lat. W pozostałych dwóch oborach tylko najmłodsze klasy i najstarsze wykazywały podobne ustosunkowanie omawianych wartości.

Obliczone przez nas i przedstawione w tej pracy wartości nie mogą być uważane za reprezentacyjne dla całej Polski, jednakże w braku obszerniejszych badań w tym kierunku będą musiały one tymczasowo spełniać rolę krajowego wskaźnika poziomu leukocytów i limfocytów. Przeprowadzone prace wymagają uzupełnień obejmujących badania krwi bydła z szeregu innych regionów kraju, uwzględniających również buhaje oraz wpływ pozostałych pór roku na badane parametry.

Wnioski

Przeprowadzone badania wykazały, że poziom białych krwinek u krów rasy ncb w Polsce podobny jest jak w innych krajach Europy oraz USA. Bezwzględne i względne wartości limfocytów krajowego bydła częściowo odpowiadają wartościom zagranicznym częściowo zaś są od nich niższe.

Związany z wiekiem spadek liczby leukocytów, bezwzględnych wartości limfocytów oraz procentu limfocytów obserwowany przez autorów zagranicznych, został potwierdzony w badaniach własnych.

Stwierdzono, że pora roku może wywierać wpływ na poziom białych krwinek i limfocytów, jednakże nie wykazano jednolitego ukie-runkowania tych zmian.

Autorzy wyrażają wdzięczność doc. dr W. Chowańcowi z Instytutu Weterynarii za przeprowadzenie badań parazytologicznych oraz dr wet. T. Harmskiemu (Leszno Wlkp.), dr wet. M. Samorkowi (Puławy) i lek. wet. S. Winiarczykowi (Przemysł) za zorganizowanie pobierania krwi i pomoc w badaniach

Piśmiennictwo

1. Bendixen H. J.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 87, 57, 1960.
2. Chevrier L.: Bull. Off. int. Epiz., 68, 119, 1967.
3. Chevrier L., Gayot G.: Bull. Off. int. Epiz. 66, 783, 1966.
4. Krzymowski T.: Roczn. Nauk Roln. 69-E-1, 1, 1959.
5. Krzymowski T.: Roczn. Nauk Roln. 69-E-1, 45, 1959.
6. Nikitin W. N., Sotowiej F. J.: cyt. z publikacji Kudriawcew A. A., Kudriawcewa L. A.: Pokazateli krowi i kostnowo mozga u zdrowych zivotnych, Moskwa, 1968.
7. Olsen R. E., Simon J.: J. Am. Vet. Med. Assoc. 151, 1430, 1967.
8. Pietrowskij G. S.: cyt. z publikacji Kudriawcew A. A., Kudriawcew L. A.: Pokazateli krowi i kostnowo mozga u zdrowych zivotnych, Moskwa, 1968.
9. Rademacher R., Kraus J.: Veterinärn Medizin, 12, 679, 1967.
10. Rath H., Schmidt F. W.: Berlin. München, tierärztl. Wschr. 81, 192, 1968.
11. Schalm O. W.: Veterinary Hematology, Londyn, 1965.
12. Stankiewicz W., Malinowski W., Krzaczynski J.: Medycyna Wet. 18, 232, 1962.
13. Theilen G. H., Blampied N. L., Harrold B., Rosenblatt L. S.: Am. J. Vet. Res. 28, 1313, 1967.
14. Tolle A.: Zbl. Veterinärmed. B, 12, 281, 1965.

Adres autora: doc. dr Marian Grundboeck, Puławy, Al. Partyzantów 51, Instytut Weterynarii.

Грундбэк М., Вильчиньска-Цеменга К., Войтонь Т. — **Нормальный уровень лейкоцитов и лимфоцитов у коров белочерной низменной породы с учетом разных районов Польши и сезона года.**

Общее количество лейкоцитов, количество лимфоцитов и процент лимфоцитов исследовали в трех стадах благополучных по лейкозу, туберкулезу и бруцеллезу. Средние величины и стандартные отклонения для разных возрастных групп и двух сезонов года представлены в таб. 5. Полученные данные сходны с данными установленными исследователями других стран а представленными в таб. 1—4.

Grundboeck M., Wilczyńska-Ciemiega K., Wojtoń T. — **Normal values of white blood cells and lymphocytes in cows of lowland black-white breed with regard to different regions of Poland and year season.**

Total leukocyte count, lymphocyte differential count and percentage of lymphocytes have been estimated in three herds free from leukosis, tuberculosis and brucellosis. The mean values with standard deviations for different age groups and two year seasons have been presented in table 5. The counts are similar to those obtained in other countries and assembled in tables 1—4.