

JERZY MAZURCZAK, BARBARA OWCZARCZYK, STANISŁAW KOSTRZYŃSKI, GRZEGORZ RUSSAK

Zastosowanie chemiluminiscencji do rozpoznawania białaczki u bydła

Z Instytutu Zoohigieny i Profilaktyki w Produkcji Zwierzęcej SGGW-AR w Warszawie

Postęp wiedzy na temat właściwości antygenowych polipeptydów i glikoproteidów onkornawirusa spowodował większe zainteresowanie placówek naukowych badaniami dotyczącymi zastosowania metod serologicznych w rozpoznawaniu białaczki bydła. Całość tego zagadnienia jest przedmiotem pracy przeglądowej opublikowanej w 1977 r. przez Grundboecka (9).

Obok wprowadzonych do diagnostyki białaczki bydła w 1954 r. metod hematologicznych, od 1969 roku (13) notuje się znaczny rozwój badań nad praktycznym zastosowaniem metod serologicznych do rozpoznawania omawianego zespołu chorobowego.

Blisko 25-letni okres stosowania metod hematologicznych pozwala już obecnie ocenić ich przydatność w pracy terenowej. Na podstawie obszernego piśmiennictwa można sądzić, iż pod wieloma względami metody te są mało skuteczne, a tym samym rozpoznawanie i uwalnianie gospodarstwa od białaczki nie jest tak szybkie, jak byśmy sobie tego życzyli. Mylny obraz, jaki możemy otrzymać stosując wyłącznie metodę badań hematologicznych spowodowany jest kilkoma przyczynami:

a) przewlekła limfocytoza pojawia się zwykle dopiero po upływie kilku lat od momentu zakażenia onkornawirusem, a zatem potwierdzenie podejrzenia choroby metodą badań hematologicznych wymaga długotrwałego ich przeprowadzania (21);

b) przewlekła limfocytoza nie jest objawem specyficznym wyłącznie dla białaczki. W nowych warunkach chowu bydła obserwujemy stały wzrost liczby przypadków limfocytozy innego tła, spowodowanej inwazją pierwotniaczą, zakażeniem bakteryjnym, a także działaniem szeregu innych, nie związanych z procesem białaczkowym, niespecyficznych czynników (17);

c) znaczny odsetek przypadków białaczki aleukemicznej czyni metody hematologiczne mało przydatnymi w gospodarstwach, w których na skutek długotrwałego okresu ich stosowania wyeliminowano już krowy podejrzane o białaczkę. W ten sposób wzrasta odsetek krow zakażonych onkornawirusem, gdyż w tym przypadku wynik badań hematologicznych jest ujemny.

Powyższe przyczyny stanowią podstawę rozważań na temat możliwości zastąpienia badań hematologicznych innymi, bardziej skutecznymi metodami. Mimo, iż metody serologiczne stosowane są od niedawna można sądzić, że są one

bardziej specyficzne i szczególnie przydatne w gospodarstwach, w których zwierzęta zakażone są wirusem białaczki, bowiem przeciwciała wykrywane tymi metodami we krwi można stwierdzić już po paru miesiącach od chwili zakażenia. Jednak i te metody nie są pozbawione pewnych cech ujemnych:

a) niezgodność wyników badań wykonanych różnymi metodami serologicznymi; przede wszystkim dotyczy to testu immunodifuzyjnego (TID), odczynu wiązania dopełniacza (OWD) i metody immunofluorescencyjnej (MIF) (7, 11, 16).

b) znaczne koszty badań; stanowi to ograniczenie masowego zastosowania wymienionych metod diagnostycznych.

Obok tych dwu grup metod stosowanych w celu rozpoznania białaczki należy odnotować próby zastosowania innych metod, na przykład analizy polarograficznej (6). Za pomocą EPR rozpoznawano białaczkę u ludzi (19). Jak dotąd nie posługiwano się tą metodą w przypadku zwierząt gospodarskich.

Celem niniejszej pracy było przeprowadzenie badań, dotyczących praktycznych możliwości zastosowania w diagnostyce białaczki bydła metody ChL. Badania te uwzględniały reakcję z α -tokoferolem, która w zależności od badanego osocza wykazywała nader charakterystyczny przebieg (14).

Materiał i metody

Do badań łącznie użyto 67 próbek osocza. Krew pobierano od krow z wydzielonych gospodarstw ppgr, w których od szeregu lat prowadzono badania hematologiczne w kierunku rozpoznania białaczki. We własnych badaniach wykorzystywano próbki krwi zwierząt, u których w 1977 r. trzykrotnie przeprowadzono badania hematologiczne. W większości przypadków udało nam się skorelować w czasie badania wykonane metodą chemiluminiscencyjną z drugim i trzecim terminem badań hematologicznych. Opis stosowanej metodyki ChL podano w poprzedniej części pracy (14).

Do badań porównawczych, w zależności od wywiadu oraz wyników badań hematologicznych, badaną populację krow podzielono na trzy grupy:

I — obejmowała krowy, u których stwierdzono kliniczną postać białaczki (9 sztuk),

II — obejmowała krowy z wywiadem hematologicznym dodatnim, bez objawów klinicznych (33 sztuki),

III — obejmowała krowy pochodzące z gospodarstw, u których w 1977 r. trzykrotnym badaniem hematologicznym nie stwierdzono zmian nasuwających podejrzenie białaczki (25 sztuk).

Wyniki

Porównanie wyników otrzymanych dzięki zastosowaniu obu metod: hematologicznej i chemiluminiscencyjnej przedstawiają tab. 1—3.

W grupie krów, u których badaniem hematologicznym stwierdzono przewlekłą limfocytozę, wskazującą na istniejący proces chorobowy, metodą ChL w 88% potwierdzono ten wynik. Mała liczba zwierząt w I grupie nie pozwoliła na obliczanie procentowe niezgodności.

W jednej z pierwszych prac z zastosowaniem testu immunodifyfuzyjnego (15) stwierdzono, że 92% dodatnich wyników hematologicznych pokrywa się z dodatnim wynikiem TID. Natomiast u krów z ujemnym wynikiem hematologicznym — 19% wykazywało wynik dodatni w tym teście.

Stosując test immunofluorescencji (MIF) wykazano, że w grupie krów badanych metodą hematologiczną 50% zwierząt reagowało pozytywnie w tym teście (7).

Tab. 1. Zestawienie porównawcze wyników badań hematologicznych i metody ChL u krów ze zmianami klinicznymi (postać guzowata białaczki)

Nr krowy	Wiek krowy (lata)	Powiększone węzły chłonne	Wyniki badań hematologicznych dodatnie od roku:	Wyniki badania hematologicznego w 1977r.			Wyniki badań ChL (oznaczenia wykonano w czasie III i IV badania hematologicznego)			
				I	II	III	współczynnik $k \times 10^{-3}$		interpretacja wyników metody ChL	
							II	III	II	III
1.	6	pachwinowe *	1975	±	+	+	+ 1	+ 10	—	—
2	8	przedłopatkowe	1974	+	+	+	- 12	- 32	+	+
3	3	powierzchniowe	—	+	+	±	- 24	- 2	+	+
4	5	przedłopatkowe	1974	+	+	+	+ 23	+ 14	—	—
5	10	pachwinowe	1974	+	+	+	n	- 6	n	+
6	6	przedłopatkowe	1977	+	+	+	n	- 1	n	+
7	8	pachwinowe	1973	+	+	+	- 10	- 11	+	+
8	11	przedłopatkowe	1973	+	±	+	- 20	- 2	+	+
9	6	biodrowe	1973	+	+	+	- 34	- 17	+	+
Liczba oznaczeń				9	9	9	7	9	7	9
Niezgodności (szt.)									2	1

*) - silne zmiany, n - nie badano

Uwzględniając większą populację przypadków w II grupie odsetek niezgodności dla tej grupy w pierwszym badaniu wykonanym metodą ChL wynosił 6%, w drugim zaś 10%, przy mniejszej liczbie oznaczeń. Na uwagę zasługuje fakt, że wyniki oznaczeń wykonanych metodą ChL potwierdzały się w kolejnych badaniach i dotyczyły zawsze tych samych krów zarówno w I jak i II grupie — dając wynik ujemny wówczas, gdy wynik badań hematologicznych był dodatni.

W III grupie niezgodność dotyczyła tylko jednego przypadku, potwierdzonego dwukrotnym badaniem ChL, w którym uzyskano wynik dodatni, mimo dwukrotnego ujemnego wyniku uzyskanego w badaniu hematologicznym. Stanowi to 4,3% niezgodnych wyników w tej grupie.

Omówienie wyników i dyskusja

Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że obecnie nie można jeszcze jednoznacznie oceniać wyników uzyskiwanych za pomocą metod hematologicznych i serologicznych.

Badania Tolle'a wykazały niedostateczną powtarzalność wyników badań hematologicznych (21). Autor ten badając w odstępach 3—7 miesięcznych populację 420 krów w pierwszym badaniu wykrył 141 krów (33,5%) reagujących pozytywnie. Natomiast w drugim badaniu tylko u 4 krów utrzymywała się nadal limfocytoza, co w stosunku do całego pogłowia stanowiło 0,95%.

W jednej z publikacji omawiających zastosowanie TID autorzy podają, iż badając populację 228 krów o prawidłowym obrazie hematologicznym w 9,6% przypadków stwierdzono obecność przeciwciał (2). W innych pracach, w których autorzy przedstawiają wyniki badań porównawczych wykonanych metodami serologicznymi i hematologicznymi zwraca uwagę fakt, że badając obory, w których endemicznie występuje białaczka, zwykle stwierdza się wysoki odsetek krów, u których wiązanie dopełniacza daje wynik dodatni, natomiast badanie hematologiczne wykazuje prawidłowe wartości (11, 15, 16). W danych opublikowanych przez Paulsen i wsp. w takiej sytuacji 83,6% krów z prawidłową liczbą limfocytów dodatnio reagowało w teście odczynu wiązania dopełniacza (16).

W innych badaniach porównawczych stwierdzono pozytywną korelację między testem immunodifyfuzyjnym i wiązaniem dopełniacza — wyniki pokrywały się w 94,3%. Natomiast brak było korelacji między powyższymi testami serologicznymi, a wynikami badań hematologicznych (11).

Jak z tego, dość skromnego zresztą, przeglądu literatury wynika, metody serologiczne wprowadzają zasadniczą zmianę w ocenie stanu zakażenia pogłowia wirusem białaczki. Trudno jest obecnie ostatecznie przesądzać, które z metod — serologiczne czy też hematologiczne, posiadają wyższą wartość diagnostyczną. Tym bardziej, że

nie znana w wielu punktach patogeneza tego typu nowotworzenia, nie pozwala stawiać znaku równości między stwierdzeniem przeciwna typowych dla onkornawirusa, a toczącym się procesem białaczkowym, czy też dalszym jego rozwojem, dającym już wyraźne zmiany kliniczne. Prawdopodobnie dopiero długookresowe badania tych samych populacji wyjaśnią tę kwestię.

Sytuacja ta uzasadnia celowość poszukiwania nowych, przydatnych do diagnostyki białaczki bydła, metod, opartych na rejestrowaniu zmian w obrębie submolekularnej patologii, związanej z procesem nowotworzenia. Wydaje się, iż pomocna w tym względzie może być metoda ChL, lecz specyficzność zaproponowanego postępowania jest zagadnieniem oczekującym jeszcze dalszych badań. Pierwszym krokiem są własne obserwacje, które dotyczyły ewentualnych zależności między przebiegiem reakcji intensywności

świecenia badanego osocza a wpływem innych procesów toczących się w ustroju.

Informację na ten temat starano się otrzymać dzięki porównaniu wyniku reakcji ChL ze stwierdzoną u badanych krów leukocytozą. Do badań brano osocze krów uznanych za dodatnie i wątpliwe oraz zdrowych, biorąc za podstawę tego podziału wynik badań hematologicznych. Zestawienie otrzymanego porównania przedstawia tab. 4.

Jak widać, nie udało się wykazać bezpośredniej zależności między różnego stopnia leukocytozą występującą u krów zdrowych i chorych — a wynikiem badań ChL.

Zgodnie z przyjętymi wcześniej założeniami (14) wyniki uzyskiwane metodą ChL informują o nasileniu reakcji wolnorodnikowych, będących wynikiem zaburzenia jakościowych i ilościowych proporcji pomiędzy pulą naturalnych

Tab. 2. Zestawienie porównawcze wyników badań hematologicznych z metodą ChL u krów z dodatnim wynikiem hematologicznym bez zmian klinicznych

Nr krowy	Wiek krowy (lata)	Wynik dodatni hematologicznie od roku:	Wyniki badania hematologicznego w 1977r.			Wyniki badania ChL (oznaczenia wykonane w czasie II i III badania hematologicznego)			
			I	II	III	Współczynnik $k \times 10^{-3}$		Interpretacja wyników metody ChL	
						II	III	II	III
1	8	1973	+	+	+	-10	-10	+	+
2	7	1974	±	+	+	-6	n	+	n
3	7	1974	±	+	±	+2	+14	-	-
4	6	1975	+	+	+	-50	-9	+	+
5	6	1975	+	+	+	-13	-7	+	+
6	6	1975	+	+	+	-12	-17	+	+
7	5	1975	+	+	+	-30	-10	+	+
8	12	1976	+	+	+	-10	-22	+	+
9	4	1976	±	+	+	-8	-7	+	+
10	8	1976	+	+	+	-14	-10	+	+
11	7	1976	+	n	+	n	-10	n	+
12	3	-	+	n	+	n	-10	n	+
13	5	-	-	-	±	+10	+11	-	-
14	6	n	±	+	+	-20	-10	+	+
15	5	n	±	+	+	+15	+10	-	-
16	6	n	+	+	+	0	+10	-	-
17	3	n	+	+	+	-27	n	+	n
18	7	n	+	+	+	-17	n	+	n
19	3	n	+	+	+	-1	-3	+	+
20	8	n	+	+	+	-8	-8	+	+
21	5	n	±	+	+	-3	-10	+	+
22	5	n	+	±	n	+14	n	-	n
23	3	n	+	±	n	+3	n	-	n
24	2	n	+	+	n	-60	n	+	n
25	6	n	+	+	n	-30	n	+	n
26	10	1975	+	+	n	-10	n	+	n
27	10	1973	n	+	+	-34	-20	+	+
28	3	1976	n	±	n	-3	n	+	n
29	13	1976	+	+	n	-11	n	+	n
30	6	1976	+	+	n	-13	n	+	n
31	10	1976	+	+	n	-10	n	+	n
32	7	1976	n	n	+	n	+21	n	-
33	7	n	n	±	n	-6	n	+	n
Liczba oznaczeń			30	23	30	20	30	-	20
Niezgodności (szt.)							2		2
Niezgodności (%)							6		10

n - nie badano

Tab. 3. Porównanie wyników hematologicznie ujemnych z wynikami uzyskanymi metodą ChL

Nr krowy	Wiek krowy (lata)	Wyniki badania hematologicznego w 1977r.			Wyniki III badania hematologicznego		Wyniki badania metodą ChL (oznaczenia wykonano w czasie II i III badania hematologicznego)			
		I	II	III	Leukocyty (tys.)	limfocyty (tys.)	współczynnik $k \times 10^{-3}$		interpretacja wyników metodą ChL	
							II	III	II	III
1	11	-	-	-	6,8	2,5	+ 10	+ 10	-	-
2	13	-	-	-	5,6	2,6	+ 40	+ 10	-	-
3	3	-	-	-	6,5	2,6	+ 2	+ 2	-	-
4	3	n	-	n	n	n	+ 30	n	-	n
5	3	-	n	-	11,7	6,3	+ 20	+ 10	-	-
6	4	-	n	-	8,6	4,5	+ 11	+ 4	-	-
7	8	-	n	-	6,2	1,4	+ 16	+ 20	-	-
8	3	-	n	-	n	n	+ 19	+ 10	-	-
9	3	-	n	-	n	n	+ 10	+ 13	-	-
10	11	-	n	-	7,6	4,4	+ 10	+ 2	-	-
11	4	-	n	-	8,4	4,5	- 10	- 3	+	+
12	3	-	n	-	7,3	3,2	+ 20	+ 20	-	-
13	5	-	-	-	10,3	5,8	+ 10	n	-	n
14	8	-	-	-	10,7	3,5	+ 16	n	-	n
15	5	-	-	-	8,8	5,1	+ 14	+ 10	-	-
16	2,5	-	-	-	7,1	4,3	+ 11	+ 10	-	-
17	7	-	-	-	5,7	2,7	+ 14	+ 10	-	-
18	7	-	-	-	9,2	3,9	+ 2	n	-	n
19	8	-	-	±	9,6	5,7	+ 10	+ 10	-	-
20	8	-	-	n	8,4	4,1	+ 4	n	-	n
21	6	-	-	n	8,8	3,9	+ 3	n	-	n
22	9	-	-	n	8,7	3,6	+ 15	n	-	n
23	11	-	n	-	9,2	3,8	n	+ 2	n	-
Liczba oznaczeń		22	14	19			22	16	22	16
Niezgodności (szt.)									1	1
Niezgodności (%)									4,5	6,25

Objaśnienie: n — nie badano.

przeciwtutleniaczy a lipidami (1, 3, 10, 20, 23, 24). Zgodnie z tym założeniem otrzymane wyniki, informując o tego rodzaju zaburzeniach, mogą być wykorzystywane w rozpoznaniu procesu nowotworowego, w naszym przypadku — białaczki. Nie zależą natomiast od procesów patologicznych nie mających charakteru nowotworzenia. Przedstawioną tezę uzasadniają porównania wykazane w tab. 4, a także badania innych autorów, porównujących specyficzność sygnału żyromagnetycznego w metodzie EPR ($g = 2,003$) dla procesów nowotworowych (4, 5) i zmiany tego sygnału w przebiegu innych schorzeń tła infekcyjnego (10, 19), toksycznego (10, 22) lub też zaburzeń narządowych, na przykład ischemii (19).

Bliższa analiza wyników ChL wykonana dla różnych stadiów procesu białaczkowego wykazała brak zależności pomiędzy wartością współczynnika k , charakteryzującego wzrost chemiluminescencji w czasie — a obserwowanymi zmianami klinicznymi. Ujemna wartość współczynnika k ($k \times 10^{-3}$) dla krów z guzową postacią białaczki wynosi średnio $-20 \pm 9,7$ i $-10,0 \pm \pm 11,2$, natomiast wartość ta dla krów II grupy wynosi -16 ± 14 i $-10,8 \pm 5,0$.

Analizując zachowanie się wartości współczynnika k w kolejnych badaniach ChL obserwuje się dwójakiego rodzaju tendencję: obniżenie lub wzrost jego wartości. Tego typu zjawis-

ko, charakterystyczne dla grupy I i II, związane jest odpowiednio ze zwiększeniem lub zmniejszeniem natężenia wolnorodnikowych procesów odpowiedzialnych za przebieg reakcji z α -tokoferolem w mieszaninie inkubacyjnej (14), która to reakcja jest bezpośrednio uzależniona od proporcji lipidów do przeciwtutleniaczy w badanym osoczu. Za obniżenie wartości k wydaje się być odpowiedzialny wzrost zawartości lipidów i obniżenie poziomu przeciwtutleniaczy w surowicy. I odwrotnie — obniżonemu poziomowi lipidów lub podwyższonemu poziomowi przeciwtutleniaczy towarzyszy wzrost wartości współczynnika k .

Obserwowane zjawisko, rejestrowane w odpowiednich przedziałach czasowych (5 miesięcy), jest zgodne z danymi otrzymanymi przez innych autorów, dotyczącymi poszczególnych faz rozwoju nowotworów (1, 5, 10, 12, 18). Stanowić może zatem dodatkowe źródło informacji o nasileniu procesu chorobowego i kierunku jego rozwoju. Postępujące obniżanie wartości k świadczyć może o toczącym się procesie nowotworzenia: im niższa jest jego wartość — tym większe jest wysycenie osocza substratami wolnorodnikowego utleniania, inicjującymi sam proces chorobowy. Wzrost wartości współczynnika k sugerować może, że proces chorobowy zmierza w kierunku osiągnięcia stanu stacjonarnego, w którym pula lipidów i przeciwtutleniaczy zbliża się do wartości rejestrowanych u zwierząt zdrowych (1, 10).

W obecnej chwili w fachowej literaturze nie znajdujemy danych na temat dynamiki rozwoju białaczki u bydła. Na podstawie hematologicznych badań w przybliżeniu określa się częstotliwość zachorowań, przyjmując, że proces zwykle nasila się u zwierząt w wieku 5—7 lat. W tym aspekcie interesującym wydaje się spostrzeżenie, iż niezgodności wyników metody ChL i metody hematologicznej w naszych badaniach głównie dotyczą zwierząt w tym właśnie przedziale wiekowym (tab. 1 i 2).

Grupę hematologicznie ujemną charakteryzuje $k > 0$, świadczące o zaniku chemiluminiscencji w reakcji z α -tokoferolem. W większości przypadków wartość k dla drugiego badania jest mniejsza w porównaniu do pierwszego badania ChL. Może to sugerować naruszenie stanu równowagi naturalnych przeciwutleniaczy i lipidów. Utrzymanie się wartości k na jednakowym poziomie przemawia na korzyść prawidłowych proporcji omawianych składników osocza.

W omawianej, hematologicznie ujemnej grupie, w jednym przypadku wartość $k < 0$, co świadczy, iż badaną krowę należałoby przesunąć do grupy zwierząt podejrzanych o białaczkę.

Tab. 4. Porównanie wyników hematologicznych i metody ChL z uwzględnieniem obrazu krwi

Nr krowy	Wiek krowy (lata)	Wynik badania hematologiczn.		Ocena metodą hematologiczną	Ocena wg metody ChL
		Leukocyty (tys.)	Limfocyty (tys.)		
1	6	9,0	6,3	±	-
2	3	11,5	7,3	±	+
3	7	10,7	7,1	±	-
4	3	10,1	5,4	-	+
5	7	11,3	6,6	±	-
6	6	10,8	4,6	+	+
7	5	13,2	9,5	+	-
8	6	18,9	11,4	+	+
9	10	11,2	9,3	+	+
10	10	29,4	23,8	+	+
11	3	10,1	5,4	+	-
12	13	12,8	9,9	+	+
13	6	13,1	8,6	+	+
14	10	19,9	11,9	+	+
15	8	27,2	29,6	+	+
16	7	9,2	3,9	-	-
17	8	9,6	5,7	±	-
18	7	9,2	4,7	-	-
19	5	9,6	4,0	-	-
20	3	11,7	6,3	-	-
21	7	9,1	4,0	-	-
22	5	10,3	5,8	-	-
23	8	10,7	3,5	-	-
24	4	10,3	4,8	-	+
25	4	9,4	4,8	-	-
26	11	9,2	3,8	-	-

Opierając się na teoretycznych założeniach, wynikających z danych opublikowanych przez innych autorów, jak również na podstawie wyników własnych badań, można wnioskować, że dla celów praktycznych warto byłoby zastosować połączenie obu systemów badawczych — metod hematologicznych i ChL. Postępowanie to polegałoby na częściowym badaniu hematologicznym, ograniczającym się do oznaczania całkowitej liczby leukocytów (tab. 4) uzupełnionym badaniami ChL. Zastosowanie tego typu układu eliminuje operowanie terminem „wynik wątpliwy”, który często spotykamy przy ocenie

badani hematologicznych. Ocena chemiluminiscencyjna może być tylko pozytywna lub negatywna.

Dużą czułość chemiluminiscencji, a szczególnie charakterystyka fotopowielaczy, może powodować, że powtarzalność metody uwarunkowana jest doborem odpowiedniego spektrum fotopowielacza i szeregiem szczegółów aparaturowych i metodycznych. Tym niemniej opisana metoda ChL potwierdziła swą przydatność do badań w rozpoznawaniu białaczki bydła.

Dalsze badania porównawcze będą mogły bardziej dokładnie określić przydatność tej metody do celów praktycznych.

Piśmiennictwo

1. Akademia Nauk ZSRR: Bioantyoksydanty w łuczewom porażeni i zlokalizowaniom rostie. Izdatelstwo Nauka, Moskwa 1975.
2. Albrecht A., Feige M., Heinert H., Mitscherlich E., Schmidt F. W., van der Wall G.: Dtsch. tierärztl. Wochenschrift, 83, 312, 1976.
3. Burlakowa E. B., Dziuba N. M., Palmina N. P.: Trudy MOIP, 16, 202, 1966.
4. Czumakow W. M., Trocenko W. Ł.: Trudy MOIP, 16, 198, 1966.
5. Emanuel N. M.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 222, 1013, 1973.
6. Ežkova M. S.: Veterinarija, 48, 70, 1972.
7. Frenzel B., Mussgay M., Schneider L. G., Straub O. C.: Zbl. Vet. Med. B. 22, 519, 1975.
8. Götte R., Rosenberger G., Ziegenhagen G.: Mh. Vet. Med., 23, 517, 1954.
9. Grundboeck M.: Medycyna Wet. 33, 527, 1977.
10. Kozłowski I. P.: Swobodnyje radikaly i ich rol w normalnych i patologicznych procesach. Izdatelstwo Maskowskogo Uniwersiteta, 1973.
11. Mammerickx M., Burny A., Dekegel D., Ghysdael J., Ketmann R., Portetelle D.: Zbl. Vet. Med. B. 24, 349, 1977.
12. Mazurczak J., Owczarczyk B., Russak G.: Medycyna Wet. 34, 496, 1978.
13. Miller J. M., Miller L. D., Olson C., Gillette K. G.: Natn. Cancer Inst. 43, 1297, 1969.
14. Owczarczyk B., Mazurczak J., Russak G.: Medycyna Wet. 34, 519, 1978.
15. Paulsen J., Kuwilsky S., Schliesser T.: Zbl. Vet. Med. B. 20, 696, 1973.
16. Paulsen J., Thies E., Schliesse T.: Zbl. Vet. Med. B., 24, 582, 1977.
17. Rosenberger G.: Die Klinische Untersuchung des Rindes. Verlag Paul Parey, Berlin, 1977.
18. Szpolianska A. M., Bondariew I. M.: Trudy MOIP, 39, 170, 1972.
19. Schwartz H. M. i wsp.: Ann. N. Y. Sci., 222, 989, 1973.
20. Tarusow B. N., Zurawlew A. I.: Trudy MOIP, 21, 125, 1965.
21. Tolle A.: Zbl. Vet. Med. B., 12, 281, 1966.
22. Wagata Ch. i wsp.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 222, 1031, 1973.
23. Zurawlew A. I., Wiesiołowski W. A., Koszczenko I. I.: Trudy MOIP, 21, 19, 1965.
24. Zurawlew A. I., Filipow I. N., Simonow W. W.: Trudy MOIP, 21, 75, 1965.

Adres autora: prof. dr Jerzy Mazurczak, ul. Nowoursynowska 166, 02-766 Warszawa.

Мазурчак Е., Овчарчик Б., Костшинский С., Руссак Г. — Применение химиolumинесценции для распознавания лейкемии крупного рогатого скота.

Цель работы состояла в проведении исследований относительно практических возможностей применения химиolumинесцентного метода в диагнозе лейкемии крупного рогатого скота.

Исследованиями подвергли 67 проб плазмы, происходящей из различных госхозов. В группе коров с положительными гематологическими результатами результаты, полученные методом ХЛ, совпадали в 88%.

Для группы коров, гематологически отрицательных, получили совпадение с методом ХЛ в 94—96%. Показали также, что при помощи метода ХЛ возможно прослеживание динамики развития процесса болезни. Этот метод позволяет кроме того рано обнаружить заболевание, последствием которого является изменение пропорции липидов и антиокислителей кровяной плазмы.

Mazurczak J., Owczarczyk B., Kostrzyński S., Russak G., — The application of chemiluminescence in the diagnosis of leukaemia in cattle.

The purpose of the work was to carry out the examinations with regard to the possibility of the use of chemiluminescence in the diagnosis of leukaemia. Sixty seven samples originated from different farms were examined. In the group of cows with the positive

haematological findings 88% of samples gave also positive results. In the control group (cows with negative haematological results) the accordance was 94—96%. Besides, it was shown that by means of chemiluminescence method it was possible to monitor the dynamics of the disease development. The method allows to discover the disease early because of the changes in the proportion of lipids and antioxidants in the plasma.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

ADAM OKÓLSKI, ANDRZEJ BIELAŃSKI

Wpływ zabiegu wyciskania ciątka żółtego u bydła na wskaźnik cielności i poziom progesteronu

Z Instytutu Stosowanej Fizjologii Zwierząt AR w Krakowie

Z Zakładu Fizjologii Zwierząt, Instytutu Zootechniki w Balicach k/Krakowa

Od czasu stwierdzenia przez Hessa, na IX-tym Międzynarodowym Kongresie Weterynaryjnym w Hadze w 1909 r., że przetrwałe ciątka żółte może być przyczyną jałowości u bydła — przyjęto szeroko w praktyce weterynaryjnej zabieg wyłuszczenia ciątek żółtych (enukleacja), drogą ucisku przez ścianę jelita. Uzyskiwane rezultaty w małym stopniu były przedmiotem obiektywnych badań. Znane były także przypadki ubocznego działania drastycznie wykonywanego zabiegu, łącznie ze skrwawieniem krów lub jałówek (8, 12).

W Polsce zagadnieniem ciątek żółtych u bydła zajmował się Runge (10), który też podawał sposób jak należy je wyłuszczać.

Poznanie luteolitycznych właściwości prostaty F₂ alfa stworzyło nowe możliwości oddziaływania na przebieg cyklu rujowego, umożliwiając planowe sterowanie czasem rui i owulacji u bydła (1). Równocześnie nowe metody radiokompetycyjne oznaczania poziomu progesteronu we krwi obwodowej pozwoliły na ustalenie charakterystycznej krzywej obniżania się tego hormonu w wyniku fizjologicznej regresji ciątka żółtego (11, 13).

W sumie wprowadzenie w centrum zainteresowań teoretycznych i praktycznych ciątka żółtego, jako „zegara biologicznego cyklu rujowego” zwraca ponownie uwagę na znaczenie mechanicznego usuwania go przez prostnicę.

Celem pracy była próba uzyskania synchronizacji rui i owulacji u jałówek i krów przy pomocy enukleacji ciątek żółtych i porównanie tego zabiegu z synchronizacją uzyskiwaną przy pomocy iniekcji preparatu I. C. I. Klostrenolu (Estrumate).

Materiał i metody

Do doświadczenia użyto 113 jałówek i krów rasy nizinnoczerwono-białej w wieku od 18 miesięcy do 12 lat. Zwierzęta były podzielone na 6 grup, w których wykonywano synchronizację w różnych układach (tab. 1). Wyłuszczenie ciątek żółtych wykonywano według klasycznej techniki. W trzecim i czwartym dniu po ostatnim zabiegu enukleacji lub iniekcji Klostrenolu oceniano objawy rujowe na podstawie wycieku śluzu, obrzęku i zaczerwienienia sromu, stopnia otwarcia szyjki macicznej. W tych samych dniach wszystkie zwierzęta unasieniano nasieniem mrożonym, niezależnie od przejawianych objawów rujowych. W trakcie unasieniania pobierano śluz z pipety inseminacyjnej i określano stopień krystalizacji. Progesteron oceniano metodą radioimmunologiczną (4), zaczynając pobieranie krwi na trzy dni przed podaniem Klostrenolu a kończąc 12 dni po wyłuszczeniu ciątka żółtego. Enukleację ciątek żółtych przeprowadzono w 12-tym dniu po podaniu prostaty F₂ alfa (u 6-ciu krów) i 16-tym dniu (u 5-ciu krów) czyli w 9-tym lub 13-tym dniu cyklu rujowego. Krew na zawartość progesteronu pobierano z żyły jarzmowej dwukrotnie w ciągu dnia.

Tab. 1. Układ doświadczenia

Grupa	Liczba zwierząt	Wykonywane zabiegi	Unasiennianie w dniach
I	24 jałówki	dwukrotna enukleacja ciątka żółtego w odstępie 11 dni na tym samym jajniku	w 3 i 4 dniu po drugiej enukleacji
II	18 jałówek	dwukrotna enukleacja ciątka żółtego w odstępie 11 dni na różnych jajnikach	w 3 i 4 dniu po drugiej enukleacji
III	22 jałówki	dwukrotny zastrzyk klostrenolu w odstępie 11 dni	w 3 i 4 dniu po drugiej iniekcji
IV	25 jałówek	jednorazowe myśnięcie ciątka żółtego	w 3 i 4 dniu po zabiegu
V	12 krów i jałówek	jednorazowa iniekcja klostrenolu w fazie ciątka żółtego	w 3 i 4 dniu po iniekcji
VI	11 krów i jałówek	Oznaczanie poziomu progesteronu we krwi. Iniekcja klostrenolu w fazie ciątek żółtych, myśnięcie ciątek żółtych w 12 dniu (6 szt.) i 16 dniu (5 szt.) po iniekcji (czyli 9 i 13 dniu nowego cyklu rujowego).	