

# FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

RYSZARD KASZTELAN, ROMUALD STUPNICKI\*, ANTONI ŻEBRACKI\*\*

## Możliwość wczesnego diagnozowania ciąży przez oznaczenie poziomu progesteronu w osoczu krwi owiec

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Nowogrodzka 160, 10-400 Łomża  
\* Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, ul. Instytucka 1, 05-110 Jabłonna  
\*\* Katedra Położnictwa Wydziału Weterynaryjnego AR-T, 10-722 Olsztyn

Na możliwość wykorzystania pomiarów stężenia progesteronu do wczesnego diagnozowania ciąży u owiec po raz pierwszy zwrócili uwagę Robertson i Sarda (8). Badania te w następnych latach zostały uzupełnione przez innych autorów (2, 7, 11). Stwierdzili oni, że w przypadku ciąży poziom progesteronu pomiędzy 14 a 20 dniem po pokryciu zbliżony jest do jego maksymalnej koncentracji w lutealnej fazie cyklu rujowego. Przy ustaleniu minimalnego stężenia progesteronu w osoczu krwi, świadczącego o zapłodnieniu owcy, należy uwzględnić fakt, że jego stężenie w osoczu krwi zależy również od takich czynników, jak: rasa, sezon rozrodczy, warunki środowiskowe itp. (7, 9).

Celem pracy było określenie możliwości wczesnego diagnozowania ciąży przez oznaczenie poziomu progesteronu w osoczu krwi owiec pokrytych w 20 dniu po usunięciu implantu z progesteronem.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono w latach 1979–81 na 283 klinicznie zdrowych owcach, rasy polskiej nizinnej, w wieku od 18 mies. do 4 lat. Owce pochodziły z fermy zarodkowej oraz dwóch indywidualnych gospodarstw specjalistycznych. Owce kryto w rui synchronizowanej w sezonie, jak i indukowanej poza sezonem rozrodczym, przy użyciu implantu zawierającego 375 mg progesteronu (Sil-Estrus, Abbott). Po jego usunięciu każdej owcy podano domięśniowo 500 j.m. (Folligon Intervet).

W celu diagnozowania ciąży oznaczano stężenie progesteronu w osoczu krwi owiec, pobranej w 20 dniu po usunięciu implantu. Przyjęto, że stężenie progesteronu wynoszące co najmniej 1 ng/ml, świadczy o skutecznym zapłodnieniu (7). Wyniki testu weryfikowano wykotem lub brakiem wykotu w spodziewanym czasie. Krew pobierano z żyły jarzmowej do probówek z heparyną, a odwirowane osocze zamrażano w temp.  $-15^{\circ}\text{C}$  do czasu wykonania analiz. Stężenie progesteronu oznaczano metodą radioimmunologiczną (10)\*.

Zbiórce zestawienie wyników „testu progesteronowego” u owiec zakończonych i nie zakończonych przedstawiono w postaci wskaźników czułości. Zestawienie „prawdziwych” i „fałszywych” wyników „testu progesteronowego” u owiec analizowano wskaźnikiem swoistości (4). Wyniki badań, w których podano zestawienia liczebności obserwacji, analizowano za pomocą testu chi-kwadrat.

\* — Oznaczenia wykonano w Instytucie Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, Jabłonna k/Warszawy.

Wskaźnik czułości dla owiec zakończonych	$\frac{\text{liczba wyników „wysokich”}^{**}}{\text{liczba owiec zakończonych}}$
Wskaźnik czułości dla owiec nie zakończonych	$\frac{\text{liczba wyników „niskich”}}{\text{liczba owiec nie zakończonych}}$
Wskaźnik swoistości	$\frac{\text{liczba wyników „prawdziwych”}}{\text{ogólna liczba wyników}}$

### Wyniki i omówienie

Na podstawie wartości stężenia progesteronu w osoczu krwi w 20 dniu po usunięciu implantu owce podzielono na zakończone i nie zakończone. Zestawienie wyników „testu progesteronowego” w poszczególnych grupach owiec doświadczalnych przedstawia tab. 1. W grupach owiec krytych i zapłodnionych w sezonie rozrodczym nie stwierdzono poziomu progesteronu poniżej 1 ng/ml. U 14 nie zakończonych owiec stwierdzono stężenie progesteronu od 1 do 4,1 ng/ml. W grupach owiec krytych i zapłodnionych poza sezonem rozrodczym u 7 szt. stwierdzono poziom progesteronu od 0 do 0,9 ng/ml. Pięć owiec nie zakończonych po pierwszym kryciu wykazało poziom progesteronu od 1 do 6,3 ng/ml.

Prawdziwe wyniki „testu pozytywnego” (stwierdzenie zakończenia), u owiec zakończonych przedstawia tab. 2. Wskaźnik czułości testu wyniósł 100% u owiec zakończonych w sezonie rozrodczym i 88,5% u owiec zakończonych poza sezonem. Różnice te są znamienne istotne ( $\alpha < 0,001$ ). Prawdziwe wyniki „testu negatywnego” (stwierdzenie niezakończenia), u owiec nie zakończonych przedstawia tab. 3. Wskaźnik czułości testu wyniósł 74,5% u owiec nie zakończonych w sezonie rozrodczym i 93,5% u owiec niezakończonych poza sezonem. Różnice te są istotne ( $\alpha < 0,01$ ).

Zestawienie „prawdziwych” i „fałszywych” wyników „testu progesteronowego” u owiec doświadczalnych przedstawia tab. 4. W grupie 144 owiec z rują synchronizowaną w sezonie rozrodczym 130 wykazało wyniki „testu progesteronowego” zgodne z wynikami wykotów.

\*\* — Wyniki „wysokie” — stężenie progesteronu  $\geq 1$  ng/ml, wyniki „niskie” — stężenie progesteronu  $< 1$  ng/ml, wyniki „prawdziwe” — liczba wyników „wysokich” u owiec zakończonych i liczba wyników „niskich” u owiec nie zakończonych.

Tab. 1. Zestawienie wyników „testu progesteronowego” w poszczególnych grupach owiec doświadczalnych

Grupa	Data	Zakończone		Nie zakończone	
		P ≥ 1 ng/ml	P < 1 ng/ml	P ≥ 1 ng/ml	P < 1 ng/ml
3	IX-1979	26	-	4	16
5	VIII-1980	28	-	8	14
7	VIII-1981	35	-	2	11
Suma		89	-	14	41
11	I-1981	20	1	1	34
13	X-1981	11	4	-	18
15	VI-1981	23	2	4	21
Suma		54	7	5	73
Złacznie		143	7	19	114

Tab. 2. Zbiorcze zestawienie wyników „testu progesteronowego” u owiec zakończonych

Stężenie progesteronu ng/ml	≥ 1	< 1	Suma	Wskaźnik czułości (%)
W sezonie	89	0	89	100,0
Poza sezonem	54	7	61	88,5 *
Suma	143	7	150	95,3

Tab. 3. Zbiorcze zestawienie wyników „testu progesteronowego” u owiec nie zakończonych

Stężenie progesteronu ng/ml	≥ 1	< 1	Suma	Wskaźnik czułości (%)
W sezonie	14	41	55	74,5 *
Poza sezonem	5	73	78	93,5 *
Suma	19	114	133	85,7

Tab. 4. Zestawienie „prawdziwych” i „fałszywych” wyników „testu progesteronowego” u owiec doświadczalnych

Stężenie progesteronu	„Prawdziwe”	„Fałszywe”	Suma	Wskaźnik swoistości (%)
	zak. + nie zak. -	zak. - nie zak. +		
W sezonie	130	14	144	90,3
Poza sezonem	127	12	139	91,4
Suma	257	26	283	90,8

Tab. 5. Przykłady prawidłowych i nieprawidłowych wyników „testu progesteronowego” u owiec doświadczalnych

Stężenie progesteronu ng/ml		Wyk. owiec	Uwagi
w 20 dniu po usunięciu implantu	w 35 dniu po usunięciu implantu		
6,3	0,6	nie wyk. owiec	wyniki fałszywie pozytywne (w 20 dniu po usunięciu implantu)
3,5	~ 0		
1,6	~ 0		
0,9	4,6	wyk. owiec	wyniki fałszywie negatywne (w 20 dniu po usunięciu implantu)
0,6	4,6		
~ 0	1,2		
7,0	3,7	wyk. owiec	wyniki prawidłowe
3,1	2,4		
2,6	2,4		

Tab. 6. Stężenie progesteronu w osoczu krwi owiec w 20 dniu po usunięciu implantu (18 dzień od średniej daty krycia)

Okres badania	Nr grupy	Liczba pobranych prób	Data pobrania	Średnie wartości progesteronu (ng/ml)	
				owce zakończone	owce nie zakończone
W sezonie	3	46	IX-1979	3,71 ± 1,44	0,60 ± 1,19
	5	50	VIII-1980	2,32 ± 0,77	0,63 ± 0,77
	7	46*	VIII-1981	2,91 ± 1,31	0,45 ± 0,58
Poza sezonem	11	56	I-1981	2,15 ± 1,12	0,38 ± 0,20
	13	33	X-1981	1,57 ± 0,75	0,24 ± 0,33
	15	50	VI-1981	3,48 ± 2,03	0,72 ± 1,38

Wskaźnik swoistości wyniósł 90,3%. U owiec z rują indukowaną poza sezonem rozrodczym wskaźnik ten wyniósł 91,4%. Wskaźniki te nie różniły się istotnie między sobą.

W tab. 5 podano przykłady prawidłowych i nieprawidłowych wyników „testu progesteronowego” u 9 wybranych owiec. Średnie stężenia progesteronu w osoczu krwi owiec w 20 dniu po usunięciu implantu przedstawia tab. 6.

Wczesne diagnozowanie ciąży oparte jest na określeniu stanu czynnościowego ciała żółtego w określonym czasie po pokryciu. Polega ono na pomiarze stężenia progesteronu we krwi obwodowej (1, 8). Zdaniem wielu autorów (8, 9, 11), oznaczanie stężenia progesteronu u owiec w 16—20 dniu po pokryciu, potwierdza diagnozę ciąży w ok. 80—90% przypadków. W prowadzonych badaniach wyniki „testu progesteronowego”, zgodne z wynikami wykotów owiec doświadczalnych, wyniosły ponad 90%. Podobne rezultaty otrzymali wyżej cytowani badacze. U owiec doświadczalnych, krytych w sezonie rozrodczym, dokładność pozytywnej diagnozy ciąży była znacznie wyższa od negatywnej ( $\alpha < 0,001$ ). Poza sezonem rozrodczym nie stwierdzono znamiennej różnicy pomiędzy tymi diagnozami. U bydła wskaźnik pozytywnej diagnozy ciąży jest z reguły niższy od wskaźnika diagnozy negatywnej (3). Wyniki fałszywie pozytywne należy tłumaczyć obecnością przetrwałego ciała żółtego, które zwykle towarzyszy wcześniej obumarłemu zarodkowi (7). Wyniki fałszywie negatywne są prawdopodobnie rezultatem wahań sekrecji progesteronu (5). Średnie wartości progesteronu, otrzymane u owiec zakończonych w sezonie rozrodczym, nie różniły się od uzyskanych poza sezonem. Owce nie zakończone miały stężenie progesteronu poniżej 1 ng/ml, co zgodne jest z wynikami badań Quirke'a i Goslinga (7).

Wnioski

1. Stężenie progesteronu w 20 dniu po usunięciu implantu u owiec pokrytych jest dobrym wskaźnikiem, pozwalającym na wczesne wykrycie ciąży lub jej wykluczenie; wyniki „testu progesteronowego” zgodne z wynikami wykotów owiec wynoszą 90,8%.

2. Oznaczanie progesteronu w osoczu krwi owiec krytych w rui indukowanej poza sezonem rozrodczym jest szczególnie przydatną metodą wykrywania owiec nieskutecznie pokrytych.

Piśmiennictwo

- Bassett M., Tana Oxborrow J., Smith J. D., Thorburn G. D.: Endocrinology 45, 449, 1969.
- Hamra A. M., Bryant M. J.: Anim. Prod. 28, 235, 1978.
- Karg H.: Zuchtwahl und Besamung 95, 10, 1981.
- Krawczyński J.: Probl. Tech. Med. 11, 171, 1980.
- McNatty K. P., Revheim K. J. A., Young A.: J. Endocr. 58, 219, 1973.
- Quirke J. F.: Ir. J. agric. Res. 18, 1, 1979.
- Quirke J. F., Gosling J. P.: Ir. J. agric. Res. 20, 9, 1981.
- Robertson H. A., Sarda J. R.: Endocrinology 49, 407, 1970.
- Rommel W., Rummer H. J.: Mh. Vet.-Med. 11, 428, 1980.
- Stupnicki R.: Endokrinologie 66, 145, 1975.

11. Thimonier J., Bosc M., Djiane J., Martal J., Terqui M.: Hormonal diagnosis of pregnancy and number of foetuses in sheep and goats. W: Management of reproduction in sheep and goats symposium. Univ. Wisconsin, Madison 1977, s. 79.

Adres autora: dr Ryszard Kasztelan, ul. Nowogrodzka 160, 18-400 Lomża

Каштелян Р., Ступницкий Р., Жебрацкий А. — Возможность раннего диагностирования беременности через определение уровня прогестерона в плазме крови овец

Цель работы состояла в исследовании возможностей раннего диагностирования беременности через определение уровня прогестерона в плазме крови овец покрытых на 21 день после удаления импланта с прогестероном. Исследования провели на 283 овцах, польской низинной породы. Овец случивали в синхронизированной охоте в сезоне, как и индуцированной вне генеративного сезона с применением импланта с прогестероном (Sil-Estrus Abbott). Через 14 дней имплант удаляли, вводя одновременно внутримышечно 500 м.е. PMSG (Folligon Intervet).

У овец, оплодотворенных в генеративный сезон, сходство „прогестеронового теста” с наблюдаемыми окотами составило 100%, зато вне сезона 88,5%. У овец, не оплодотворенных в генеративном сезоне, этот показатель составил 74,5%, у овец, не оплодо-

творенных вне генеративного сезона — 93,5%. Сходство результата „прогестеронового теста” с наблюдаемыми окотами составило 90,8%. Этот метод особенно опригоден к обнаруживанию беременности у овец, случиваемых в охоте, индуцированной вне генеративного сезона.

Kasztelan R., Stupnicki R., Żebracki A. — Progesterone level in the blood plasma as an index of early pregnancy detection in ewes

The usefulness of measuring progesterone in the blood plasma for early pregnancy detection in ewes was examined. Estrus was synchronized (in breeding season) or induced (out of breeding season) in 283 Polish Lowland ewes using progesterone implants (Sil-Estrus, Abbott). After 14 days the implants were removed and at the same time 500 IU of PMSG was given intramuscularly (Folligon Intervet) and the ewes were mated. Twenty days after the implant removal the samples of blood were taken for progesterone assay. In ewes fertilized in the season 100% consistency of the progesterone test ( $\geq 1$  ng/ml) with the lambings was observed, and 88,5% in ewes out of season. In sheep not fertilized in the season this index was 74,5% and in animals out of season — 93,5%. The progesterone test is particularly useful in detecting pregnancy in ewes with induced estrus mated out of breeding season.

JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI, ANDRZEJ LACHOWSKI

## Zależność pomiędzy zaburzeniami poporodowymi u krów a zawartością elementów mineralnych w surowicy krwi podczas okresu okołoporodowego

Zakład Badania Chorób Niedoborowych Instytutu Weterynarii, Oddział w Bydgoszczy, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Efektom rzadszych, głębokich deficytów mineralnych u zwierząt są konkretne jednostki chorobowe, które przebiegają zwykle w formie ostrej. W przeciwieństwie do nich przewlekłe, podkliniczne niedobory mineralne występują częściej, zaś ich uchwytnym skutkiem są zaburzenia płodności. Kowertz (11), analizując zawartość składników mineralnych we krwi krów przed wycieleniem, stwierdził wyraźną zależność pomiędzy zmienionymi poziomami Ca, P i Mg a zdrowotnością i płodnością. Wielokrotnie też, w przypadkach obniżonej zawartości poszczególnych elementów mineralnych we krwi notowano charakterystyczne zaburzenia rozrodcze np. przy hipomagnezemia — skłonność do zatrzymania łożyska, deficytach fosforu i miedzi — spadek zapładnialności, obniżonej koncentracji wapnia — zaburzenia inwolucji macicy (2, 7, 12).

W odniesieniu do okresu poporodowego związku pomiędzy zaburzeniami w gospodarce mineralnej notowanymi w pierwszym miesiącu laktacji a schorzeniami dróg rodnych i jajników mogą być dyskusyjne. Wynika to z faktu, że u większości krów w dniu porodu i krótko po nim występuje przejściowa chwiejność gospodarki mineralnej (1, 6, 18), która nawet w

przypadkach dłuższego jej utrzymywania nie oddziałuje ujemnie na przebieg *puerperium* i dalszą płodność (9).

Celem niniejszej pracy, będącej kontynuacją wcześniejszych obserwacji było stwierdzenie: a) czy wybrane schorzenia poporodowe wykazują związek z określonymi zaburzeniami mineralnymi, b) jak zachowują się makroelementy w surowicy krów dotkniętych najcięższymi rodzajami powikłań poporodowych, c) czy skłonność do komplikacji poporodowych znajduje odbicie w zwiększonym odsetku krów wykazujących zaburzenia mineralne w ostatnim miesiącu ciąży.

### Materiał i metody

Obserwacje przeprowadzono w dwóch gospodarstwach doświadczalnych na 110 krowach o wyrównanych cechach fizjologicznych, wycielonych między październikiem 1982 a czerwcem 1984 r. W obu stadach nie notowano wcześniej klinicznych objawów niedoborów. Podstawę żywienia zimowego stanowiły kiszonki z kukurydzy, pochodzącej z zasobów własnych gospodarstw, uzupełnianej dodatkami siana, okopowych i pasz treściwych. Latem zwierzęta przebywały na pastwisku. Dodatków mineralnych nie stosowano, z wyjątkiem jednego z gospodarstw, w którym latem 1983 r. wykładano lizawki solne.

Badania kliniczne poprzedzał szczegółowy wywiad