

10. Konw. wet. Francja — Jugosławia. J. Off. Rep. Française. No. 167, 6267, 1965.
11. Konw. wet. Francja — Rumunia. J. Off. Rep. Française. No. 181, 7838, 1967.
12. Konw. wet. Francja — Czechosłowacja. J. Off. Rep. Française. No. 8, 426, 1968.
13. Konw. wet. Francja — Bułgaria. J. Off. Rep. Française. No. 194, 7995, 1968.
14. Konw. wet. Grecja — Jugosławia. Ephimeris tis Kyrerniseos. No. 50, 367, 1970.
15. Konw. wet. Holandia — RFN. U. N. Treaty Ser. 362, 196, 1958.
16. Konw. wet. Japonia — Argentyna. U. N. Treaty Ser. 451, 78, 1961.
17. Konw. wet. Jugosławia — Austria. U. N. Treaty Ser. 336, 148, 1956.
18. Konw. wet. Jugosławia — Albania. Służbeni List. No. 28, 233, 1968.
19. Konw. wet. Jugosławia — Austria. Służbeni List. No. 51, 251, 1970.
20. Konw. wet. Jugosławia — Bułgaria. U. N. Treaty Ser. 375, 310, 1955.
21. Konw. wet. Jugosławia — RFN. Służbeni List. No. 4, 3, 1970.
22. Konw. wet. Kuba — Czechosłowacja. U. N. Treaty Ser. 527, 214, 1964.
23. Konw. wet. Polska — Bułgaria. U. N. Treaty Ser. 260, 278, 1949.
24. Konw. wet. Polska — Jugosławia. U. N. Treaty Ser. 423, 252, 1960.
25. Konw. wet. Polska — Węgry. U. N. Treaty Ser. 436, 342, 1949.
26. Konw. wet. Rumunia — Belgia. U. N. Treaty Ser. 502, 52, 1962.
27. Konw. wet. Rumunia — Jugosławia. U. N. Treaty Ser. 395, 122, 1965.
28. Konw. wet. Rumunia — NRD. U. N. Treaty Ser. 504, 238, 1956.
29. Konw. wet. Turcja — Bułgaria. Resmi Gazete. No. 12, 860, 1968.
30. Konw. wet. Węgry — Bułgaria. U. N. Treaty Ser. 438, 184, 1958.
31. Konw. wet. Węgry — Bułgaria. U. N. Treaty Ser. 438, 212, 1958.
32. Konw. wet. Węgry — Czechosłowacja. U. N. Treaty Ser. 408, 184, 1958.
33. Konw. wet. Węgry — NRD. U. N. Treaty Ser. 407, 234, 1957.
34. Konw. wet. Włochy — Argentyna. Italian Min. Health's Circular. No. 144, 1, 1970.
35. Konw. wet. Włochy — Holandia. U. N. Treaty Ser. 455, 243, 1959.
36. Konw. wet. Włochy — Jugosławia. U. N. Treaty Ser. 379, 5, 1955.
37. Konw. wet. Włochy — Kolumbia. Italian Min. Health's Circular. No. 151, 1, 1970.
38. Konw. wet. Włochy — Rumunia. Gaz. Uff. Italiana. No. 290, 5895, 1966.
39. Konw. wet. Włochy — Szwajcaria. U. N. Treaty Ser. 257, 122, 1953.
40. Konw. wet. Włochy — Szwajcaria. U. N. Treaty Ser. 291, 115, 1956.
41. Radkowski M.: Wymagania sanitarne w międzynarodowym handlu zwierzętami rzeźnymi i mięsem na podstawie konwencji weterynaryjnych. Praca dokt. ART Olsztyn 1980.
42. Radkowski M.: Medycyna wet. 39, 219, 1983.
43. Umowa wet. Węgry — Jugosławia. U. N. Treaty Ser. 477, 242, 1957.
44. Umowa wet. Włochy — Szwajcaria. U. N. Treaty Ser. 257, 259, 1954.

Adres autora: dr Mieczysław Radkowski, ul. Osfińskiego 19/14, 10-010 Olsztyn

FIZJOLOGIA I PATOFIZJOLOGIA

TADEUSZ STEFANIAK

Wpływ różnych dawek heparyny na wyniki testu NBT u bydła

Katedra Fizjopatologii Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Test NBT (nitro-blue tetrazolium test) stanowi jeden ze sposobów oceny zdolności bakterio-bójczych granulocytów obojętnochłonnych.

Test NBT wykonywany wg Park i wsp. (9) jest zbyt skomplikowany, aby mógł być powszechnie stosowany w praktyce weterynaryjnej, dlatego Nikolaiczuk (8) wprowadziła modyfikację testu, dzięki której wykonanie jego jest znacznie uproszczone i możliwe do przeprowadzenia w warunkach terenowych.

Wśród czynników pozaustrojowych, mogących powodować niewiarygodność testu, można wymienić: niedokładność podczas rozpoznawania testowanych komórek, opóźnienia w wykonywaniu testu po pobraniu próbek krwi, wpływ antykoagulantów (11), możliwość zanieczyszczeń (np. pyłem) podczas pobierania krwi w terenie.

Stwierdzono (11), że stosowanie antykoagulantów wiążących Ca^{++} powoduje występowanie niższych wyników testu od tych, w których jako antykoagulant używano heparyny. W badaniach prowadzonych u ludzi obserwowano fałszywie wysokie wyniki testu, gdy używano wysokich koncentracji heparyny (3, 11).

Wpływ heparyny na wyniki testu NBT jest związany z mechanizmem transportu tego barwnika do wnętrza komórek.

Heparyna jest silnie naładowanym polianionem, a NBT w wolnej postaci dwuwartościowym kationem, łatwo więc tworzy kompleksy pod postacią żółtawych precypitatów.

Heparyna ma być transportowana do wnętrza komórek po związaniu z innymi makromolekulami (Fabian i wsp., Shen i Ryser, Morad i wsp. cyt. 12). Wstępnym etapem do endocytozy heparyny przez komórki ssaków ma być związanie się jej ze swoistymi powierzchniowymi receptorami (1, 12). Najprawdopodobniej rolę tych receptorów spełnia fibronektyna powierzchniowa (12). Internalizacja heparyny po połączeniu jej z receptorami powierzchniowymi zależy od konfiguracji powierzchni komórki (12). Czy ten mechanizm ma zastosowanie również w przypadku internalizowania kompleksów NBT-heparyna?

Celem pracy było ustalenie, jaki wpływ na wyniki testu NBT u dorosłego, klinicznie zdrowego bydła ma wielkość dawki heparyny użytej jako antykoagulant.

Material i metody

Badania przeprowadzono na 19 sztukach bydła obu płci, rasy ncb w wieku powyżej 18 miesięcy, stanomacior i płodów oraz w płynie owodniowym i omocz- (Kliniki i RZD).

Krew pobierano z *v. jugularis externa* do strzykawki, z której natychmiast odmierzano po 1 ml do szklanych, niesilikonowych probówek zawierających 1; 2,5; 5; 10; 20; 50 jednostek heparyny (Polfa-Warszawa).

Spontaniczny test NBT wykonano wg metody uproszczonej (8), po ok. 60 min. od pobrania. Zabarwione preparaty oglądano przy powiększeniu 1200 razy. Granulocyty obojętnochłonne klasyfikowano jako redukujące NBT (+), słabo redukujące NBT (±), nie redukujące NBT (−) błękitu nitrotetrazoliowego do formazanu.

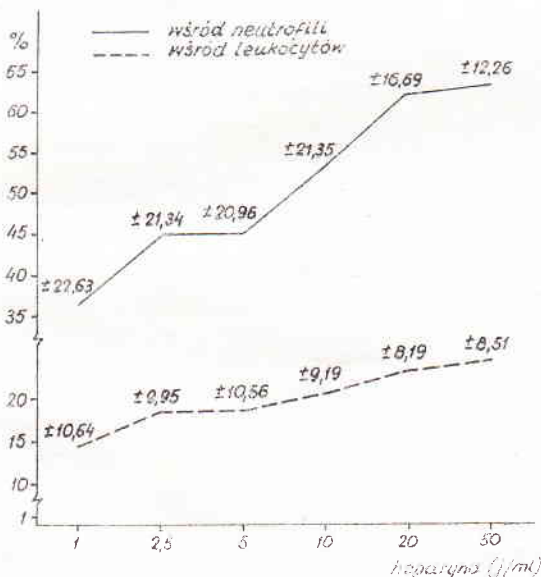
W ocenie statystycznej wyników wykorzystano test t Studenta.

Wyniki i omówienie

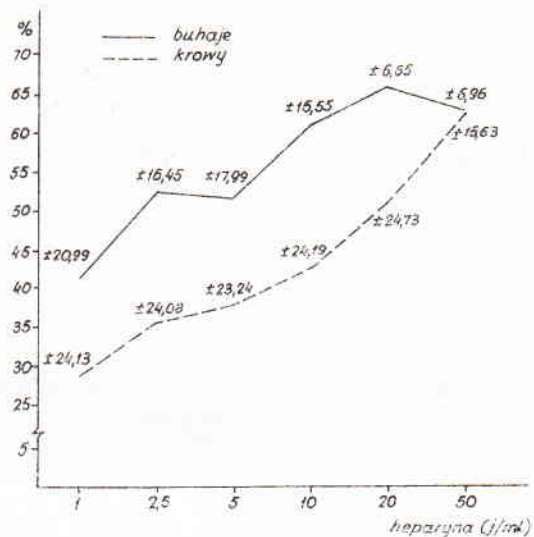
Wyniki przedstawiono na ryc. 1, 2 i 3.

Z badań wynika, że koncentracja heparyny od 1 do 50 jednostek w 1 ml wpływa znacząco na wyniki testu NBT wykonanego u tych samych, klinicznie zdrowych zwierząt. W obecnej pracy nawet przy najniższych wynikach, jakie uzyskano przy 1 j. heparyny/ml, średni poziom neutrofilów NBT (+) był wyższy od poziomów referencyjnych (13, 14). Średnia koncentracja neutrofilów NBT (+) przy 1 j. heparyny/ml wynosiła 36,95%, przy 50 j./ml 63,41%. Różnica ta była istotna ($p \leq 0,05$). Gdy jako kryterium porównawcze przyjęto całość leukocytów, wyniki wahały się od 14,8% przy 1 j./ml do 24,93% przy 50 j./ml. Różnica ta była istotna ($p \leq 0,05$).

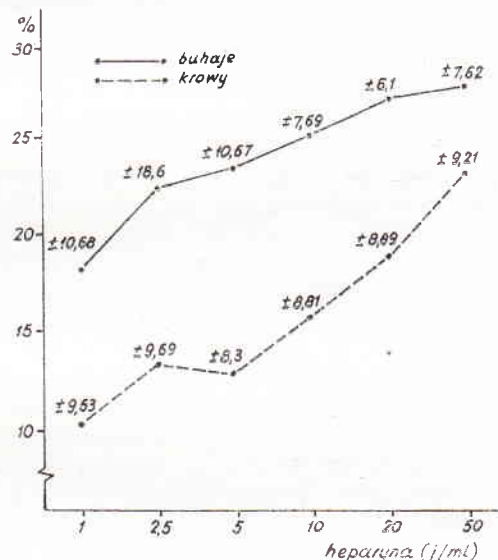
U zwierząt, które mimo klinicznego braku objawów chorobowych miały podwyższoną liczbę komórek NBT (+), szczególnie przy koncentracjach 20 i 50 j./ml, do redukcji dochodziło także w części eozynofiliów i limfocytów. U takich zwierząt pobudzający wpływ wzrastają-



Ryc. 1. Średnia koncentracja neutrofilów NBT dodatnich (%)



Ryc. 2. Procentowy udział komórek NBT dodatnich wśród granulocytów obojętnochłonnych u buhajów i krow



Ryc. 3. Procentowy udział granulocytów obojętnochłonnych NBT dodatnich wśród leukocytów u buhajów i krow

cych dawek heparyny był mniej widoczny, niż u zwierząt o niższym poziomie komórek redukujących. Stwierdzono również wyższą procentową zawartość komórek NBT (+) u buhajów w porównaniu z krowami (ryc. 2 i 3).

Uzyskane wyniki wykazują zbieżność z doniesieniem Chandlera i wsp. (3), którzy w teście NBT wykonywanym u zdrowych ludzi dorosłych i noworodków stwierdzili, że przy stosowaniu heparyny w koncentracji 1 j./ml, wyniki testu były najniższe i mieściły się w normie (poniżej 5% u dorosłych i ok. 13,5% u noworodków).

W przedstawionych badaniach u bydła zdrowego liczba komórek redukujących NBT rosła wraz ze wzrostem koncentracji heparyny, osiągając najwyższy poziom przy koncentracjach 20 i 50 j./ml krwi badanej. Przy zastosowaniu

1 j. heparyny/ml wyniki testu NBT były najniższe (ryc. 1—3), jednak odchylenie i błąd standardowy były tu wyższe niż przy 2,5 i 5 j. heparyny/ml. Wyniki uzyskane przy 2,5 i 5 j. heparyny na ml krwi wykazują dużą zbieżność i są tylko nieco wyższe niż przy 1 j./ml. Biorąc to pod uwagę można sugerować, aby w praktyce terenowej do testu NBT stosować koncentrację około 3 j. na ml. krwi (tj. 25 j. na probówkę o pojemności 8 ml; odpowiada to jednej kropli handlowej heparyny rozcieńczonej 1:10 solą fizjologiczną). Dzięki temu można uniknąć niebezpieczeństwa krzepnięcia niedokładnie rozmieszczonych próbek, które istniałoby przy użyciu 1 j. heparyny/ml.

Bardzo podobne były wyniki testu NBT przy 20 i 50 j. heparyny/ml krwi. Używanie tych dawek powoduje jednak tak znaczny wzrost ilości komórek redukujących NBT, że wartość kliniczna takich wyników stoi pod znakiem zapytania. Wyniki otrzymane przy tych koncentracjach nie różnią się istotnie od wyników zwierząt z infekcją bakteryjną (obserwacje własne niepublikowane).

Wy tłumaczenia tego zjawiska można by szukać w doniesieniu Rothwell i Doumas (11), którzy stwierdzili, że najwyższa intensywność powstawania precypitatów NBT-heparyna występuje przy 60—80 j. heparyny/ml. W badaniach tych autorów wykonanych wg metody Park i wsp. (8), najwyższe wyniki uzyskiwano przy 40 i 60 j. heparyny/ml krwi, czyli w koncentracjach zbliżonych do tych, w których najintensywniej powstają precypitaty NBT-heparyna.

Stwierdzone różnice w wynikach testu NBT między krowami i buhajami (ryc. 2 i 3) należałoby wiązać między innymi z odmiennym sposobem ich utrzymania (7). Te różnice ujawniły się najsilniej przy koncentracjach 1—10 j. heparyny/ml krwi, ale były statystycznie nieistotne i zacierają się stopniowo przy wyższych koncentracjach. Tę odmienność niwelował prawdopodobnie wpływ wyższej koncentracji heparyny stymulujący neutrofile do włożonej fagocytozy.

Oprócz zmian ilościowych zauważono też prawidłowość polegającą na intensywniejszej redukcji NBT przez neutrofile przy wyższych koncentracjach heparyny/ml krwi, niż przy koncentracjach niższych. W preparatach, w których używano 1, 2,5 i 5 j. heparyny/ml komórki sklasyfikowane jako NBT dodatnie zawierały złogi formazanu nieregularnie rozmieszczone w cytoplazmie. Barwnik nie przesłaniał całej cytoplazmy, a jądro komórki było dobrze widoczne. Neutrofile nieredukujące NBT do formazanu zachowywały klasyczny dla normalnych komórek kształt i proporcje.

Gdy użyto 20 i 50 j. heparyny/ml krwi, komórki NBT dodatnie miały najczęściej cytoplazmę wypełnioną licznymi złoгами formazanu, które często przesłaniały jądro komórkowe.

Jądra neutrofilów sprawiały wrażenie „rozдутych”, niekiedy różniły się znacznie od spotykanych w normalnych rozmazach, co utrudniało różnicowanie pałeczek od granulocytów wielopłatowych. Komórki NBT ujemne nierzadko, mimo braku widzialnych złogów formazanu, miały jądro powiększone (rozpułchnione).

U części zwierząt wyniki testu NBT były wysokie już przy najniższych dawkach heparyny, mimo że nie zauważono u nich odchylen w stanie zdrowia. Wzrost dawek heparyny nie powodował u nich tak wyraźnych zmian w wynikach testu, jak to wynika z ryc. 1. Przyczyną podwyższenia wyników była prawdopodobnie jakaś miejscowa (ograniczona) infekcja bakteryjna nieuchwytna w badaniu klinicznym. Można domniemywać, że oddziaływanie czynników towarzyszących infekcyjnemu zapaleniu pobudzało neutrofile do zwiększonej redukcji NBT. Nie można wykluczyć, iż na wyniki testu NBT wpływała koncentracja fibrynogenu (koncentracja fibrynogenu znacznie rośnie u bydła w stanach zapalnych).

Zauważono także, że w przypadku silnego przesunięcia obrazu Arnetha-Schillinga w lewo (ok. 30% neutrofilów o jądrze w formie pałeczki) młodociane komórki nie redukowały NBT do formazanu. Należałoby sprawdzić innymi metodami (5), czy to dotyczy tylko zdolności redukcyjnych, czy także niemożności wchłonięcia barwnika przez granulocyty pałeczkowate.

Wnioski

1. Stosowanie heparyny jako antykoagulantu w koncentracji 1—5 j. na ml nie zniekształca wyników testu NBT u bydła.
2. Dla zwiększenia wiarygodności wyników testu NBT należy stosować stałą dawkę heparyny. Na podstawie wyników przedstawionych w niniejszej pracy proponowana jest koncentracja 3 j. heparyny na ml krwi badanej.
3. Przy użyciu heparyny w koncentracji 2,5 i 5 j./ml krwi u bydła dorosłego (rasy ncb) redukcję NBT wykazało ok. 19% ogółu krwinek białych, tj. ok. 45% ogółu neutrofilów.

Piśmiennictwo

1. Bleiberg I., Mac Gregor I., Aronson M.: *Thromb. Res.* 29, 53, 1983.
2. Cairo M. S. i wsp.: *Am. J. Pathol.* 113, 67, 1983.
3. Chandler B. D., Kapoor N., Barker B., Boyle R. J., Oh W.: *J. Pediatrics* 92, 638, 1978.
4. Czarnetzki B. M., Cowan D. H., Belcher R. W.: *Am. J. Clin. Pathol.* 64, 34, 1975.
5. De Bari U. A., Needle M. A.: *Histochemistry* 56, 155, 1978.
6. Merkiel K., Prokopowicz J.: *Diagn. Lab.* 21, 61, 1985.
7. Nikołajczuk M.: *Arch. Immunol. Therapiae Exp.* 26, 471, 1978.
8. Nikołajczuk M.: *Medycyna Wet.* 35, 604, 1979.
9. Park B. H., Fikrig S. M., Smithwick E. M.: *Lancet* 2, 592, 1969.
10. Roszkowska W., Worowski K.: *Postepy Hig. Med. Dośw.* 38, 73, 1984.
11. Rothwell D. J., Doumas B. T.: *J. Lab. Clin. Med.* 85, 950, 1975.
12. Ryser H. J. P., Morad J.N., Shen W. C.: *Cell. Biol. Int. Rep.* 7, 823, 1983.
13. Salwa A.: *Medycyna Wet.* 38, 582, 1982.
14. Sara I. S., Dwarkanath P. K.: *Indian J. Anim. Sci.* 47, 362, 1977.
15. Szczylik C., Górnaś P., Carewicz R.: *Diagn. Lab.* 15, 35, 1979.

Adres autora: lek. wet. Tadeusz Stefaniak, ul. Wróblewskiego 25 p. 409, 51-627 Wrocław

Стефаниак Т. — Влияние разных доз гепарина на результаты критерия NBT у скота

Цель работы состояла в оценке влияния на результаты критерия NBT у взрослого, клинически здорового скота гепарина, примененного как антикоагулянт в дозах 1—50 е./мл крови.

Критерий выполнено в модификации, рекомендуемой в местной практике. Отмечено, что в исследуемый период доза гепарина существенно влияет на результаты критерия NBT ($P \leq 0,05$). Для практического применения в критерии NBT рекомендуется доза 3 е. гепарина/мл исследуемой крови.

Stefaniak T. — Effect of different doses of heparin on the results of NBT test in cattle

The purpose of the work was to estimate whether heparin used in doses from 1 to 50 IU/ml of blood had any effect on the NBT test in healthy cattle. The modified test used in field practice was employed. It was found that a dose of heparin influenced the results of NBT test ($P \leq 0.05$). According to the author heparin should be administered in a dose of 3 IU/ml of blood.

ZAGADNIENIA SPOŁECZNO-ZAWODOWE

WŁADYSŁAW LUTYŃSKI

Weterynaryjne decyzje administracyjne dotyczące przedsiębiorstw państwowych gospodarstw rolnych

Katedra Patologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Stosownie do przepisów ustawy z dnia 25.09.1981 r. o przedsiębiorstwach państwowych (Dz. U. nr 24, poz. 122 z 1982 r. nr 45, poz. 289 z 1983 r., nr 36 poz. 165 i nr 39 poz. 176) przedsiębiorstwa państwowe, a więc m.in. i przedsiębiorstwa państwowych gospodarstw rolnych, prowadzą swą działalność na zasadach samodzielności, samorządności i samofinansowania (art. 1), a organy państwowe mogą podejmować decyzje w zakresie działalności przedsiębiorstwa państwowego tylko w wypadkach przewidzianych przepisami ustawowymi (art. 4 ust. 2). Z powyższych przepisów wynikają więc następujące wnioski:

1. podstawą prawną do wydawania przez organ weterynarii decyzji administracyjnej w stosunku do przedsiębiorstwa pgr w zakresie zwalczania zaraźliwych chorób zwierzęcych i chorób zakaźnych przenoszących się na ludzi, nadzoru sanitarnego nad produkcją żywności pochodzenia zwierzęcego itp. mogą być wyłącznie przepisy określonych ustaw (rozporządzeń Prezydenta Rzeczypospolitej) bądź normatywnych aktów wykonawczych wydanych na podstawie i w granicach wyraźnego upoważnienia ustawowego, głównie rozporządzeń Ministra Rolnictwa;

2. decyzje te, jako jedne z form władzej konkretyzacji obowiązków przedsiębiorstwa, muszą być wydane w trybie, na zasadach i przy zastosowaniu form przewidzianych przez Kodeks postępowania administracyjnego;

3. w wypadku, gdy określone przepisy prawne upoważniają organy administracji do podejmowania rozstrzygnięć w zależności od ich uznania (tzw. swobodne uznanie administracyjne — treść wydawanych decyzji uzależniona jest wówczas np. od uzasadnionych względów spo-

lecznych, czy gospodarczych) obowiązkiem organu administracji jest wziąć pod uwagę skutki wydanej decyzji i jeżeli będzie ona w istotnym stopniu rzutować na przebieg i rezultaty podstawowej działalności przedsiębiorstwa, to decyzja powinna być zgodna nie tylko z treścią określonego przepisu, ale w ramach ewentualnego swobodnego uznania administracyjnego powinna uwzględniać „ducha” i cele reformy gospodarczej, chyba że interes społeczny stoi temu na przeszkodzie.

Postać zależności między przedsiębiorstwem państwowym a organem założycielskim czy sprawującym nadzór, jest obecnie inna niż przed laty i w wyniku przeprowadzenia reformy gospodarczej zakres samodzielności przedsiębiorstw państwowych uległ wydatnemu rozszerzeniu. Przedsiębiorstwa mają obecnie gwarancje tej samodzielności, m.in. mają one środki prawne wobec organów sprawujących nadzór i możliwość dochodzenia odszkodowania w razie doznania szkody z powodu wykonania decyzji organu nadzorującego. Sytuacja ta powoduje, że wpływanie przez organy weterynaryjne na procesy zachodzące w przedsiębiorstwach pgr mające znaczenie dla ochrony zdrowia zwierząt drogą wydawania nakazów za pośrednictwem organów sprawujących nadzór nad tymi przedsiębiorstwami, jest obecnie ograniczone. Wydaje się też, że co najmniej dyskusyjna jest obecnie możliwość wydania przez Ministra Rolnictwa, Leśnictwa i Gospodarki Żywnościowej zarządzenia nie opartego na podstawie ustawowej, ustanawiającego w stosunku do przedsiębiorstw pgr określone obowiązki w sferze weterynarii. Powszechnie obowiązujące, oparte o odpowiednie ustawy weterynaryjne, przepisy prawne dotyczące profilaktyki chorób