

ANDRZEJ MAX

Próba określenia roli przeciwciał antyplemnikowych w niepłodności u krów

Katedra Rozrodu Zwierząt z Klinik Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Materiał i metody

Jednym z rodzajów tzw. niepłodności o niewyjaśnionej przyczynie, szczególnie w odniesieniu do ludzi, jest niepłodność o podłożu immunologicznym, wywołana przez przeciwciała antyplemnikowe. W 1899 r. Landsteiner (23) i Metchnikoff (24) niezależnie od siebie wykazali właściwości antygenowe obcogatunkowego nasienia wstrzykiwanego zwierzętom. W następnych latach, w wyniku podjęcia kolejnych badań stwierdzono występowanie czasowej niepłodności po immunizacji nasieniem (4, 33). W kolejnych dziesięcioleciach problemy immunologiczne w procesach rozrodu stały się przedmiotem szeroko zakrojonych badań, które są opisane w licznych publikacjach przeglądowych (2, 5, 8, 12, 19, 32, 37, 43).

Immunologiczne aspekty płodności zostały uwzględnione w badaniach przeprowadzanych u bydła. Erski-Biljić i wsp. (10) próbowali określić związek przyczynowy między wzrostem miana przeciwciał antyplemnikowych a niepłodnością krów. Stwierdzili, że rezultaty nasieniania były znacznie gorsze u zwierząt o średnich i wysokich mianach aglutynacyjnych (w teście makroaglutynacji Kibricka), niż u krów z niskimi mianami. Także stopień penetracji plemników w śluzie rujowym malał wraz ze wzrostem miana przeciwciał w surowicy i śluzie, co potwierdzają późniejsze badania Zafra-casa i wsp. (45). U jałówek i krów wielokrotnie unasiennianych stwierdzono wysokie miano spermaglutynin (10, 29, 41). Ponadto wykazano, że rozcieńczalniki nasienia stosowane w inseminacji mogą prowadzić do powstania przeciwciał obniżających płodność (9, 13). Badania Tornyo-va (42) wykazały znaczne obniżenie aktywności proteolitycznej akrosomu plemników buhaja inkubowanych z surowicą krów niepłodnych o wysokich mianach spermaglutynin i spermimobilizyn, podczas gdy obniżenie to nie występowało przy użyciu surowic krów o niskich mianach przeciwciał. Vukotić i wsp. (44) wywołały odpowiedź immunologiczną u jałówek po immunizacji osoczem nasienia. Uzyskali pozytywne wyniki testów: makroaglutynacyjnego Kibricka i mikroaglutynacyjnego Franklina-Dukesa. Przy najwyższych mianach aglutynacyjnych przeprowadzili test immunofluorescencji pośredniej (IF), w którym zaobserwowali świecenie całego akrosomu lub jego przedniej części.

Celem niniejszej pracy było określenie zależności między aktywnością antyplemnikową surowic a płodnością krów.

Badania przeprowadzono w fermie bydła Rolniczego Zakładu Doświadczalnego SGGW-AR w sezonie zimowo-wiosennym 1985 i 1986. Materiał stanowiło 157 krów w wieku 2—11 lat użytkowości mlecznej, krzyżówek międzyrasowych: ncb, HF, jersey i simentaler.

Do badań immunologicznych pobierano w dniu uci krew do plastikowych 10-ml probówek. Po wytworzeniu się skrzepu krew wirowano, zebraną surowicę rozlewano do probówek o pojemności 1 ml i zamrażano w temp. -23°C do czasu badania. Wszystkie próbki surowicy użyte do badań były inaktywowane w temp. 56°C przez 30 minut.

Do badań aktywności spermaglutynacyjnej surowic zastosowano test mikroaglutynacji Franklina-Dukesa (11), opisany również przez Rose i wsp. (32). Surowice przygotowywano, sporządzając ich 4-krotnie wzrastające rozcieńczenia w buforze fosforanowym (PBS): 1:1, 1:4, 1:16, 1:64, 1:256 i 1:1024. Do próbek z surowicą lub jej rozcieńczeniami dodawano po 0,03 ml zawiesiny nasienia o koncentracji 40 mln plemników w ml i inkubowano przez 2 godziny w temperaturze 37°C . Każdorazowo stosowano kontrolę dodatnią i ujemną. Po inkubacji z każdej próbki nanoszono kroplę na szkiełko podstawowe i po nakryciu szkiełkiem nakrywkowym oglądano w mikroskopie świetlnym pod powiększeniem 125 razy. Jako miano aglutynacyjne surowicy przyjęto największe rozcieńczenie, w którym była aglutynacja: ++.

Surowice krów poddano również badaniu testem immunofluorescencji pośredniej (IF) z plemnikami buhaja według Hjörta i Hansena (16), opisanym też przez Rose i wsp. (32). Plemniki płukano dwukrotnie, dodając do 0,1 ml nasienia po 10 ml PBS i wirując z prędkością 400 g przez 7 minut. Sporządzano zawiesinę plemników w PBS o koncentracji 8 mln/ml. Krople zawiesiny nanoszono na odłuszczone szkiełko podstawowe i po wyschnięciu utrwalano w absolutnym metanolu przez 30 minut. Splukiwano w PBS i na moment zanurzano w wodzie destylowanej. Po wyschnięciu nakraplano na poszczególne pola z utrwalonymi plemnikami nie rozcieńczone surowice badane i porównawcze w komorze wilgotnej w temperaturze pokojowej przez 1 godzinę. Następnie surowicę splukiwano przez 20 minut w PBS, zmieniając go co 10 minut, po czym na chwilę zanurzano w wodzie destylowanej. Po wyschnięciu nakraplano koniugat, który został wyprodukowany w Wytwórni Surowic i Szczepionek w Warszawie przez immunizację królików bydlęcą IgG i sprzężenie uzyskanej antysurowicy z izotiocjanianem fluoresceiny (FITC). Preparaty z nakropionym koniugatem inkubowano przez 30 minut w temperaturze pokojowej. Solukiwano w PBS j.w. Następnie nanoszono na preparaty po 1 kropli mieszaniny PBS z glicerolem (w równych częściach) i nakrywano szkiełkami nakrywkowymi. Oglądano pod mikroskopem fluorescencyjnym Zeissa z lampą HBO-50. Jako wynik dodatni przyjęto wyraźne, silne świecenie w obrębie akrosomu (24) o dużej ilości plemników. Za dodatnie w teście IF uznano te, które w 2 badaniach miały wyniki: + i + lub + i +—. Kontrolę dodatnią testu IF stanowiła surowica heterologiczna barania, natomiast kontrole ujemne: surowica heterologiczna ujemna (świńska) i próba z PBS zamiast surowicy badanej.

Jako kontrolę swoistości testu przeprowadzono: test inaktywacji surowic (14) i test zablokowania IF (22).

Nasienie użyte do wszystkich testów pochodziło od tego samego buhaja.

Dla statystycznego porównania wyników wykorzystano test χ^2 .

Wyniki i omówienie

Wszystkie badane surowice powodowały wystąpienie aglutynacji główkowej (H-H) plemników buhaja. Średnie miano aglutynacyjne 157 zbadanych surowic wynosiło średnio 1:100. U krów, które zacieliły się miano wynosiło średnio 1:91, natomiast u krów niecielnych 1:103. Krowy zacielone po pierwszym unasiennieniu ($n = 15$) cechowały się średnim mianem aglutynacyjnym 1:82.

Porównanie wyników testu Franklina-Dukeasa z płodnością krów przedstawia tab. 1. Ze 157 surowic zbadanych testem IF, 112 sklasyfikowano jako dodatnie lub ujemne. Pozostałe 45 surowic, co stanowi 28,7% nie zostało ocenionych z powodu otrzymania w dwóch kolejnych badaniach wyników niepewnych bądź sprzecznych. Ze 112 sklasyfikowanych surowic 76 (67,9%) oceniono jako dodatnie, natomiast 36 (32,1%) jako ujemne.

Porównanie wyników IF z płodnością krów przedstawiono w tab. 2.

W teście IF przy użyciu surowic dodatnich, inaktywowanych uprzednio przez absorpcję z plemnikami buhaja we wszystkich przypadkach obserwowano zanik swoistego świecenia. Zablockowanie reakcji IF przez surowicę królicza anty IgG bydłej spowodowało zanik lub zmniejszenie intensywności świecenia w 16 przypadkach (80%) na 20 badanych surowic dodatnich.

Wyniki badania surowic krów testem mikroaglutynacji Franklina-Dukeasa nie wykazują istotnych różnic w średnich mianach aglutynacyjnych krów cielnych i niecielnych (tab. 1). Także indeks unasiennienia krów o różnych mianach jest podobny, aczkolwiek różnica między grupami skrajnymi wynosi ponad 1.

Występowanie zjawiska aglutynacji główkowej (H-H) plemników obserwowano w obecności wszystkich badanych surowic. W największym odsetku (50,3%) wystąpiło miano aglutynacyjne 1:64, podczas gdy miana skrajne, tj. 1:16 i 1:512 wystąpiły z mniejszą częstotliwością, a mianowicie odpowiednio: u 7,6% i 2,0% badanych krów. W środowisku surowicy rozcieńczonej 1:64 na ogół plemniki wykazywały dobrą ruchliwość, przy czym stopień ruchliwości był niekiedy związany ze skłonnością do aglutynacji. Nasuwa się przypuszczenie, że surowica rozcieńczona 1:64 stanowi optymalne środowisko dla plemników buhaja.

Średnia liczba unasiennień poprzedzających badanie (tab. 1) była najmniejsza w grupie krów o najniższym mianie aglutynacyjnym, tj. 1:16, jednakże różnice pomiędzy grupami nie były statystycznie istotne. Grupy krów o mianie 1:512, z uwagi na minimalną liczebność, nie można brać pod uwagę.

Tab. 1. Płodność krów o różnych mianach mikroaglutynacyjnych w teście Franklina-Dukeasa ($n=157$)

Wybrane wskaźniki	Miano aglutynacyjne					
	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
Występowanie miana u krów	7,6	10,8	50,3	17,2	12,1	2,0
Zacieliło się % *	20,0	25,0	41,7	26,3	44,4	0
Sr. liczba unasiennień przed bad.	1,0	1,3	1,5	1,7	1,2	2,3
Sr. indeks inseminacji	2,89	3,07	3,58	3,33	3,50	4,00

Objaśnienie: * krowy bez zmian chorobowych, w dniu unasiennienia mające wyczuwalny pęcherzyk lub jajniki gładkie.

Tab. 2. Płodność krów w świetle wyników testu immunofluorescencji pośredniej z plemnikami buhaja ($n=112$)

Wybrane wskaźniki	Wynik badania IF	
	+	-
Występowanie odczytu IF u krów	76	36
%	67,9	32,1
Zacieliło się % *	24,5 ^a	50,0 ^b
Sr. liczba unasiennień przed bad.	1,64	1,36
Indeks inseminacji	3,78	3,0

Objaśnienie: * krowy bez zmian chorobowych, w dniu unasiennienia mające wyczuwalny pęcherzyk lub jajniki gładkie: a < b przy $p < 0,05$.

Tab. 3. Porównanie wyników testów Franklina-Dukeasa i IF

Miano aglutynacyjne	Liczba krów	Dodatnie wyniki IF (%)
1:16 - 1:32	22	50,0 ^a
1:64	52	63,5 ^b
1:128 - 1:512	36	83,3 ^c

Objaśnienie: a, b, c różnice istotne przy $< 0,05$.

Przytoczone wyniki nie wskazują na wyraźną zależność między ilością przeprowadzonych zabiegów unasiennienia a spermaglutynacyjną aktywnością surowic krów. W odróżnieniu od wyników niniejszej pracy, badania krów za pomocą testów spermaglutynacyjnych przeprowadzone przez różnych autorów (10, 29, 41, 42) sugerują występowanie zależności pomiędzy ilością inseminacji a mianem aglutynacyjnym z jednej strony, a pogorszoną płodnością z drugiej strony. Potwierdzają to badania z immunizacją samic pełnym nasieniem lub jego frakcjami (25, 27, 44), w wyniku których uzyskano zarówno wzrost mian przeciwciał antyplemnikowych, jak również obniżenie płodności.

W badaniach własnych występowała aglutynacja główkowa (H-H), dla stwierdzenia której najbardziej czułe są testy mikroaglutynacyjne (7, 17, 38); do nich należy zastosowany test Franklina-Dukeasa. Ngah i wsp. (28) uważają,

że głównym czynnikiem immunologicznym odpowiedzialnym za występowanie tego typu aglutynacji plemników buhaja są IgM reagujące z powierzchnią błony komórkowej okolicy akrosomu i sugerują możliwość fizjologicznej roli tego zjawiska. Shulman (39) wskazuje na możliwość spontanicznego powstawania przeciwciał antyplemnikowych u osobników żeńskich, a odpowiedź immunologiczna może mieć charakter anamnesticzny po zadziałaniu czynnika przypominającego.

Oprócz tego zwraca się uwagę na powstawanie aglutynacji główkowej plemników na skutek działania tzw. β -spermaglutynin, nie będących przeciwciałami i nie mających związku z płodnością (18, 19, 31). Z tego powodu Ansbacher i wsp. (3) podważają wartość testu Franklina-Dukesa. Na możliwość wystąpienia wyników fałszywie pozytywnych na skutek nieswoistej aglutynacji zwraca też uwagę Shulman (38). Mettler i Gradl (26) uważają, że test ten u ludzi nadaje się do oceny jakościowej, nie zaś ilościowej (oznaczanie miana), a próby są porównywalne jedynie wówczas, gdy są badane z nasieniem pochodzącym z tego samego ejakulatu. Przy zastosowaniu ejakulatów pobranych w różnych dniach wyniki bywają niepowtarzalne, co stwierdzono także w badaniach własnych.

Wyniki badań własnych skłaniają raczej do przypuszczenia, że aktywność spermaglutynacyjna surowic bydlęcych na wykazanym poziomie jest zjawiskiem fizjologicznym. Potwierdzają to badania (1, 35, 36), które wykazały, że dodanie surowicy homologicznej do nasienia buhaja powodowało wystąpienie aglutynacji H-H, co było ponadto skorelowane pozytywnie z odsetkiem plemników o zachowanym akrosomie (35, 36).

Generalnie zjawisko aglutynacji plemników w obecności rozcieńczeń surowic należy uznać za objaw procesów zbliżonych do kapacytacji a w szczególności związane z naturalną zdolnością główki plemnika do przylegania (40).

Test Franklina-Dukesa samodzielnie nie wykazał dużej przydatności do diagnostyki niepłodności o tle immunologicznym u krów, wydaje się natomiast, że mógłby znaleźć zastosowanie jako jeden z elementów oceny zdolności zapłodniającej nasienia.

Nieco odmiennie przedstawiają się wyniki testu IF (tab. 2). Odsetek krów zacielenych przy dodatnim wyniku testu IF jest istotnie niższy u krów reagujących ujemnie. Także średni indeks inseminacyjny w grupie krów IF-dodatnich, wynoszący 3,78, jest wyższy od średniego indeksu inseminacyjnego krów IF-ujemnych, wynoszącego 3,0 (jednak różnica ta nie jest statystycznie znamienne).

Wynik IF opiera się na ocenie świecenia plemników. Intensywność tego świecenia nie jest jednakowa, tak w obrębie różnych fragmentów plemnika, jak też w obrębie tych samych fragmentów różnych plemników. Wystę-

puje to także przy badaniu tych samych surowic, lecz w różnych próbkach wykonanych tego samego lub innego dnia. Stąd ocena reakcji IF obarczona jest dużym błędem z powodu subiektywnej interpretacji. W badaniach własnych prawie 30% badanych krów nie zostało sklasyfikowanych na skutek trudności w ocenie wyników testu, a w szczególności z powodu sprzecznych wyników otrzymanych w kolejnych badaniach tych samych surowic. Trzeba też mieć na względzie to, że w procesie wstępnego przygotowania i utrwalania materiału docnodzić może do maskowania, częściowej degradacji lub całkowitej utraty antygenów plemnikowych aktywnych w IF (6, 21, 46), bądź też do powstania świecenia nieswoistego (30). Ponadto wykazano, że koncentracja plemników w ejakulacie ma wpływ na wielkość odsetka plemników wykazujących świecenie (15).

We własnych badaniach uznano za reakcję swoistą wyłącznie świecenie w obrębie całego akrosomu, gdyż tylko ono wykazywało silne natężenie. Jest to zgodne z obserwacjami autorów, którzy oceniali reakcję IF po immunizacji nasieniem psów (34) i jałówek (44). Nie obserwowano intensywnego świecenia w części ekwatorialnej, czapeczce pozajądrowej i witce plemnika, w odróżnieniu od innych autorów (14, 15, 16, 20).

Porównanie wyników testu mikroaglutynacji Franklina-Dukesa i testu IF (tab. 3) wskazuje na istnienie zależności między nimi. Jednakże porównanie zacieleń krów w świetle łącznych wyników obu testów sugeruje, że głównie IF ma odniesienie do płodności.

Reasumując należy stwierdzić, że wyniki przeprowadzonych badań dają podstawę do wnioskowania o możliwości istnienia związku między zwiększonym poziomem przeciwciał antyplemnikowych a obniżeniem płodności, jednakże wykorzystanie opisanych testów do diagnostyki indywidualnej powinno być nacechowane ostrożnością.

Piśmiennictwo

1. Aalseth E. P., Sengler P. L., Becker W. C.: J. Reprod. Fert. 53, 193, 1978.
2. Alexander N. J., Anderson D. J.: Fertil. Steril. 47, 192, 1987.
3. Ansbacher R., Keung-Yeung K., Behrman S. J.: Fertil. Steril. 34, 100, 1980.
4. Baskin M. J.: Am. J. Obstet. Gynaecol. 24, 892, 1932.
5. Beer A. E., Neaves W. B.: Fertil. Steril. 29, 3, 1978.
6. Bigazzi P. E.: Immunologic effects of vasectomy in men and experimental animals. W: Gleicher N.: Reproductive immunology, Alan R. Liss, Inc., New York 1981, s. 461.
7. Boettcher B., Hjört T., Rumke Ph., Shulman S., Vuazow O. E.: Clin. exp. Immunol. 30, 173, 1977.
8. Bronson R., Cooper G., Rosenfeld D.: Fertil. Steril. 42, 171, 1984.
9. Coulter G. H., Foote R. H., Schiavo J. J., Braun R. K.: Theriogenology 6, 585, 1976.
10. Erski-Biljić M., Varadin M., Borjanović S.: Immunology of Reproduction — Proc. Fourth Intern. Symp., Varna 1978, BAN Sofia 1979, s. 309.
11. Franklin R. R., Dukas C. D.: Amer. J. Obstet. Gynecol. 89, 6, 1964.
12. Gleicher N.: Reproductive immunology: including papers from the First S. B. Gulsberg Seminar on Reproductive Immunology held at the Mount Sinai Medical Center, New York, June 26 and 27, 1980, Alan R. Liss, Inc., New York 1981.
13. Griffin J. F. T., Nunn W. R., Hartigan P. J.: J. Reprod. Fert. 25, 193, 1971.
14. Hansen K. B.: J. Reprod. Fert. 29, 18, 1972.
15. Hansen K. B., Hjört T.: Clin. exp. Immunol. 9, 21, 1971.
16. Hjört T., Hansen K. B.: Clin. exp. Immunol. 8, 9, 1971.

17. Ingerslev H. J.: Acta Obstet. Gynec. Scand. Suppl. 100, 1961.
18. Ingerslev H. J., Hjört T.: Fertil. Steril. 31, 496, 1979.
19. Isajima S.: Reproductive immunology. Proc. 2nd Int. Congress of Reprod. Immunol. Kyoto 1983, Elsevier Amsterdam 1983.
20. Jones W. R., Ing R. M. Y.: J. Obstet. Gynec. Brit. Commonwealth 81, 365, 1974.
21. Kay K., Alexander N. J.: Clin. exp. Immunol. 32, 259, 1978.
22. Kudica J. F.: Immunofluorescencja. PZWL Warszawa 1967.
23. Landsteiner K.: Zbl. Bakt. Parasitenk. 25, 546, 1899.
24. Mechnikoff E.: Ann. Inst. Pasteur, Paris 13, 131, 1909.
25. Mettler L., Czuppon A. B.: Biol. Immunol. Reprod. 5, 1986.
26. Mettler L., Gradi T.: J. Reprod. Fert. 44, 217, 1975.
27. Munoz M. G., Metz Ch. B.: Biol. Reprod. 18, 669, 1978.
28. Ngan, M. B., Kelly K. W., Senger P. L.: Biol. Reprod. 21, 62, 1982.
29. Ostashko F. J., Dibirov M. K.: Immunology of Reproduction. Proc. Fourth Intern. Symp., Varna 1978, BAN Sofia 1979, s. 359.
30. Prakash C.: Etiology of immune infertility. W. Gleicher N.: Reproductive Immunology, Alan R. Liss, Inc., New York 1981.
31. Rejniak J. V.: Immunology of infertility. W. Gleicher N.: Reproductive Immunology, Alan R. Liss, Inc., New York 1981.
32. Rose N. R., Hjört T., Rumke Ph., Harper M. J. K., Vyazov O.: Clin. exp. Immunol. 23, 175, 1976.
33. Rosenfeld S. S.: Am. J. Obst. Gynaecol. 12, 385, 1926.
34. Rosental R. C., Mayers W. L., Burke T. J.: Am. J. vet. Res. 45, 370, 1984.
35. Senger P. L., Saacke R. G.: J. Anim. Sci. 37, 323, 1973.
36. Senger P. L., Saacke R. G.: J. Reprod. Fert. 44, 215, 1975.
37. Shulman S.: Obstet. Gynecol. Survey 27, 553, 1972.
38. Shulman S.: Agglutinating and immobilizing antibodies to spermatozoa. W: Cohen J., Hendry W. F.: Spermatozoa, antibody and infertility, Blackwell Scientific Publication London 1978, s. 81.
39. Shulman S.: Future prospects. W: Cohen J., Hendry W. F.: Spermatozoa, antibody and infertility, Blackwell Scientific Publication London 1978.
40. Sjöblom P.: Acta Univ. Upsalensis 39, 1, 1986.
41. Strzezek J., Bućko T., Jastak Z.: Medycyna Wet. 29, 2, 1973.
42. Tornqvist A.: Immunology of Reproduction. Proc. Fourth Intern. Symp., Varna 1978, BAN Sofia 1979, s. 245.
43. Wawryk R., Wawroński Wł., Horak St.: Ginek pol. 9, 723, 1983.
44. Vukotić M., Erski-Biljić M., Varadin V., Borjanović S.: Immunology of Reproduction. Proc. Fourth Intern. Symp. Varna 1978, BAN Sofia 1979, s. 175.
45. Zafraas A. M., Samouillidis S. C., Critchton A. B., Kohler-Samouillidis G.: Tierarztl. Umschau 42, 973, 1987.
46. Zhitkov S. M., Boulanov I. D., Nakov L. S., Kiro K. I.: Immunology of Reproduction. Proc. Fourth Intern. Symp. Varna 1978, BAN Sofia 1979, s. 223.

Adres autora: lek. wet. Andrzej Max, ul. Hawajska 10 m. 27, 0-776 Warszawa

Макс А. — Попытка определения роли антител против живчиков в бесплодии коров

Сыворотки коров исследовались тестами: микроагглютинационным Франклина-Дьюска и косвенной иммунофлуоресценции (ИФ) с живчиками быка. В первом тесте наблюдалось появление головчатой агглютинации (H-H) живчиков в присутствии всех исследуемых сывороток, причем в наибольшем проценте (50,3%) титр составил 1:64. Средний титр в группе стельных коров (1:91) не отличался от среднего титра коров, инсеминированных неэффективно (1:103). Не показано, чтобы число инсеминаций, предвещающих исследование повлияло на спермаглюцинационную активность сывороток коров.

В тесте ИФ 67,9% сывороток дало положительную реакцию. Из этой группы коров стельными стало действительно меньше животных (24,5%), чем из группы ИФ-отрицательных коров (50%). Сравнение результатов обоих тестов указывает на наличие зависимости между ними, однако, главным образом, ИФ имеет отнесение к плодовитости. Полученные результаты дают обоснование для выводов о связи между увеличенным уровнем антител против живчиков и понижением плодовитости коров.

Max A. — A trial to determine the role antispermatozoal antibodies in sterility of cows

Sera of cows were tested with bull spermatozoons in the microagglutination test of Franklin-Dukes and the indirect immunofluorescence test (IF). In the first test head agglutination (H-H) of spermatozoons was obtained with sera of the all cows examined, and the highest percent of sera (50.3%) reacted at a titre 1:64. A mean titre in a group of pregnant cows (1:91) did not differ from that in cows inseminated without any effects (1:103). The number of inseminations did not influence on agglutination of spermatozoons by sera of animals.

In the IF test 67.9% of sera reacted positively. In this group the number of pregnant cows (24.5%) was significantly lower than in the IF negative cows (50%). Comparison of the two tests point to the presence of relationships between them, however, only between the IF test and fertility are close relations. The obtained results enable to suggest on the presence of relationships between the increased level of antibodies against spermatozoons and a lowered fertility of cows.

PEETERS J. E., GEEROMS R.: Skuteczność u królików preparatu diclazuril w stosunku do Eimeria magna odpornej na robenidynę. (Efficacy of diclazuril against robenidine resistant Eimeria magna in rabbits). Vet. Rec. 124, 589—590, 1989 (22)

Od 1982 r. robenidyna jest stosowana powszechnie w zwalczaniu inwazji Eimeria magna u królików. Przy bardzo wysokiej skuteczności początkowej począwszy od 1984 r. obserwuje się wzrost liczby szczepów opornych na ten lek. W badaniach porównano efektywność nowego preparatu diclazuril w stosunku do szczepu E. magna V86/445 opornego na robenidynę. Badania przeprowadzone na królikach otrzymujących z karmą robenidynę (66 ppm) lub diclazuril (1 ppm) zarażonych E. magna V86/445 wykazały, że u królików, które nie otrzymywały żadnego z badanych kokcydiostatyków obniżała się szybko masa ciała, pojawiała się biegunka i ustawało pobieranie karmy. Stosowanie robenidyny nie likwidowało biegunki mimo obniżenia ilości wydalanych oocyst kokcydii o 54%. Diclazuril zapobiegał występowaniu objawów klinicznych redukując jednocześnie wydalanie oocyst kokcydii z kałem o 99,9%.

HINDMARSH F., FRASER J., SCOTT K.: Skuteczność wieloważnej szczepionki zawierającej Bacteroides nodosus w zanokcicy owiec w Wielkiej Brytanii. (Efficacy of a multivalent Bacteroides nodosus vaccine against foot rot in sheep in Britain) Vet. Rec. 125, 128—130, 1989 (6)

Przebadano skuteczność wieloważnej szczepionki przeciwko zanokcicy owiec (Footvax) zawierającej 8 serotypów Bacteroides nodosus na 317 jagniętach i owcach. Grupę kontrolną stanowiły 422 zwierzęta nie poddane szczepieniu. Szczepionkę stosowano podskórnie w okolicy szyi poniżej ucha, dwukrotnie w odstępie 28 dni. Zwierzętom z grupy kontrolnej w to samo miejsce podano iniekcje płynu fizjologicznego. Szczepienie nie tylko obniżało w sposób znamieny występowanie przypadków zanokcicy, ale także miało działanie lecznicze. U 36,1% szczepionych zwierząt występowały reakcje miejscowe w formie utraty owłosienia w miejscu iniekcji szczepionki lub jałowych owrzodzeń, które szybko cofały się. Szczepienia nie likwidowały jednakże całkowicie występowania zanokcicy w stadach szczepionych.

G.

G.