

patologicznego biopsji *endometrium*. Dowodem na to, że zmiany zwyrodnieniowe w *endometrium* mogą być w pewnym stopniu odwracalne, stanowią rezultaty terapii uzyskane po zastosowaniu złuszczenia błony śluzowej wykonanej różnymi metodami (5, 6, 9). Pozytywne skutki terapii z zastosowaniem kuretażu mogą dowodzić, iż bodziec chorobowy, który wywołał zmiany zwyrodnieniowe w *endometrium* działał okresowo i był przemijający.

W celu wyjaśnienia istoty patogenezy *endometrosis* klaczy konieczne są dalsze badania kompleksowe, które uwzględniałyby występowanie okresowych zaburzeń hormonalnych.

Piśmiennictwo

1. Doig P. A., McKnight J. D., Miller R. B.: Can. Vet. J. 22, 72, 1981.
2. Held J. P., Rohrbach B.: J. Rep. Fert. Suppl. no. 44, 698, 1991.

3. Kenney R. M.: Eq. Vet. J. 25, 184, 1993.
4. Kenney R. M.: J. Am. Vet. Med. Ass. 172, 241, 1978.
5. Ley W. B.: Vet. Med. 648, 1994.
6. Ley W. B., Bowen J. M., Sponenberg D. P., Lessard P. N.: Theriogenology 32, 262, 1989.
7. Preibisch J.: Medycyna Wet. 17, 257, 1961.
8. Ricketts S. W.: Equine Vet. J. 7, 102, 1976.
9. Ricketts S. W.: Equine Vet. J. 17, 324, 1985.
10. Robbins C. K.: Pathologic Basis of Disease. W. B. Sanders Company Philadelphia 1989, 1186-1188.
11. Schoon H. A., Schoon D., Klug E.: Pferdeheilkunde 8, 355, 1992.
12. Slusher S. H.: Am. Ass. Eq. Pract. 31, 171, 1985.
13. Tischner M., Mijares F. G.: Medycyna Wet. 29, 129, 1983.
14. Watson E. D., Skolnik S. B., Zanecovsky H. G.: Theriogenology 38, 575, 1992.
15. Zembracki A.: Medycyna Wet. 19, 464, 1963.

Adres autora: prof. dr hab. Maria Katkiewicz, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

WANDA BORZEMSKA, EWA KARPIŃSKA, EWA ŚWIERCZEWSKA***,
GRAŻYNA KOSOWSKA, PIOTR SZELESZCZUK, HENRYK MALEC****,
ELŻBIETA MALICKA*, MARIAN BINEK**, JERZY NIEDZIÓŁKA*****

Wpływ dimeru lizozymu (Lydium KLP) na zarodki kurze

Zakład Chorób Drobiu Katedry Epizootiologii, *Katedra Patologii,

**Katedra Mikrobiologii i Immunologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

***Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt Wydziału Zootechnicznego SGGW, ul. Przejazd 4, 05-840 Brwinów

****Zakład Consultingu i Usług Drobiarskich, ul. Mikołajczyka 11/14, 03-984 Warszawa

*****Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska Wiejskiego Wydziału Zootechnicznego AR, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Summary

The influence of the lysozyme dimmer (Lydium KLP) on chick embryos

After administration of the preparation (Lydium KLP) to the egg white of six-day-old embryos, its influence on the following parameters was studied: time of death and pathological picture of the embryo, brooding and hatching diagram, percentage of hatched chicks and biochemical indicators, the pathomorphological picture and immunological reactivity after hatching.

The preparation was found to be not harmful; it caused neither pathological disturbances nor was it teratogenic. The fact that dead embryos did not use the egg white ($p \leq 0.001$) and that the time from the pipping of the shell to hatching was minimally extended could have been the result of the embryos classifying the preparation as heterospecific. A positive influence was determined on the postnatal immunologic reactivity.

Lizozym (muramidaza) zawarty w białku jaja jest naturalnym, wysoko aktywnym składnikiem prze-

znaczonym do ochrony zarodka w trakcie embriogenezy. Jego wielorakie funkcje biologiczne, z których najlepiej poznano działanie bakteriobójcze (3), zostały szeroko omówione przez Trziszkę (10) oraz przez Trziszkę i wsp. (11). Natomiast wprowadzenie dimeru lizozymu pod nazwą handlową Lydium KLP (NIKA) do lecznictwa weterynaryjnego (5) rozpoczęło nowy etap zastosowania naturalnie ukierunkowanej immunomodulacji u zwierząt. Równocześnie preparat ten znajduje zastosowanie u ptaków jako specyfik poprawiający efekty produkcyjne w wychowie kurcząt (7) a także wspomagający w terapii pasterelozy indycząt (6). Z obserwacji własnych jak i obserwacji terenowych wiadomo, że stosowanie go w iniekcji u kogutów z przewlekłym, gronkowcowym zapaleniem stawów przyniosło pozytywne wyniki. Wykazano także jego działanie immunomodulacyjne u kurcząt w stosunku do odporności humoralnej (8) i komórkowej (9), co może tłumaczyć powyższe sukcesy terapeutyczne. Lizozym w stosunku do zarodka jest substancją homologiczną. Jak dotąd przeprowadzono na embrionach jedynie prace genetyczne mające na celu wzmożenie jego wydzie-

lania do jaj (4). Natomiast dimer lizozymu (Lydium KLP) został uznany jako preparat terapeutyczny (5).

Celem badań było zastosowanie uprzednio opracowanej metody kontroli szkodliwości preparatów w próbie biologicznej na zarodkach (1, 2) do ujawnienia odrębności dimeru lizozymu z ewentualnym wykluczeniem negatywnego wpływu w okresie prenatalnym. Ponadto badania te mają stanowić kompleksową próbę kontrolną do oceny wpływu preparatu Lydium KLP i innych substancji w łącznym stosowaniu na zarodkach.

Materiał i metody

Do badań użyto 1646 zarodków w wieku 132-138 godz., co łącznie z próbą pilotową stanowiło 1856 embrionów. Jaja pochodziły od kur ISA będących w szczycie nieśności. Lęzono je w aparacie halowym Reform Pol-drob D-108 i Atlas 180 w warunkach produkcyjnych.

Grupę I stanowiły 382 zarodki, którym wstrzyknięto do białka wg metody opracowanej poprzednio (1, 2) 0,2 ml nie rozcieńczonego preparatu Lydium KLP (NIKA) o stężeniu 5 mg/10 ml*. Grupę drugą stanowiło 385 zarodków, którym podaną tą samą metodą 0,2 ml nie rozcieńczonego preparatu Lydium KLP o stężeniu 2 mg/10 ml**. Grupę III stanowiło 375 zarodków, którym w analogiczny sposób wstrzyknięto 0,2 ml PBS dla uwzględnienia strat spowodowanych zabiegiem.

Grupa IV nie traktowana, obejmująca 504 zarodki była jedynie schłodzona do temp. pokojowej na czas dokonywania zabiegu. Przeznaczono ją do oceny zdolności wylęgowej jaj i do porównania testowanych lęgów z fizjologicznym przebiegiem embriogenezy.

Przekładu do komory klujnikowej dokonano w 460 godz. inkubacji i od tej chwili rozpoczęto notowania do diagramów lęgu i klucia wg metody stosowanej wcześniej (1). Wyląg zakończono w 508 godz. inkubacji. Wskaźniki wylęgu podano w procentach. Z każdej grupy pobrano 30 piskląt do oceny masy ciała i badań laboratoryjnych. W surowicy 10 piskląt z każdej grupy i obu grup kontrolnych oznaczono standardowymi metodami (2) poziom białka całkowitego (g/dl), aktywność aminotransferazy alaninowej AIAT (IU/L), aminotransferazy asparaginianowej AspAT (IU/L), mocznika BUN (mg/dl), kwasu moczowego (mg/dl), fosfatazy alkalicznej (IU/L) i kreatyniny (mg/dl). Wyniki biochemiczne oceniano statystycznie testem t-Studenta.

Wycinki wątroby, śledziony, nerki, grasicy i torby Fabrycjusza wylężonych piskląt poddano kontroli histopatologicznej. Skrawki utrwalono w 8% formalinie i barwiono metodą H-E oraz Sudanem III.

Ponadto po 10 kurcząt z I, II i III grupy w wieku 11 dni immunizowano domięśniowo inaktywowaną szczepionką Nobilis IB + ND + EDS (Intervet). Po 14 dniach przeprowadzono oznaczenie poziomu przeciwciał testem HI u wszystkich grup. Miano HI podano w średniej arytmetycznej i w log₂ według ogólnie przyjętych zasad. Zarodki

zamarłe poddano rutynowym badaniom embriopatologicznym, wynotowując wszystkie znalezione odchylenia od normy wg metod stosowanych wcześniej (1, 2). W wartościach liczbowych przedstawiono wyłącznie te zmiany, w których obserwowano jakiegokolwiek różnice między grupami oraz odkształcenia morfologiczne charakterystyczne dla wpływów teratogennych. Obliczono również średnią liczbę wad embrionów na 1 nałożone jajo. Dane liczbowe przedstawiono w procentach w stosunku do nakładu i opracowano statystycznie testem jednorodności dla prób różnicowych.

Wyniki i omówienie

Jak wykazano poprzednio (1, 2) wykorzystanie zarodków kurzych do próby biologicznej jest metodą czułą, nadającą się do testowania rozmaitych substancji i leków.

Nie przeprowadzono jak dotąd obserwacji na zarodkach w jaki sposób embriony wykorzystują naturalny lizozym. Można jedynie założyć teoretycznie, że jeśli Lydium KLP będzie potraktowane przez embriony nie jako lizozym lecz jako substancja obca, zostanie on spożyty wraz z białkiem *per os* do 16 dnia embriogenezy. Założenie to jest prawdopodobnie słuszne, bowiem zarodki 20-dniowe, naturalnie wybrakowane i obumarłe, pozostające w odpadzie powylęgowym nie spożywały dostatecznie białka

Tab. 1. Zamieranie zarodków, średni czas ich przeżycia (h), wskaźniki wylęgu (%) i masa ciała piskląt (g)

Grupa	Zarodki		Pisklęta			
	zamarłe (%)	średni czas przeżycia (h)	wybrakowane (%)	wyląg (%)	masa ciała (g)	
					po wylęgu	po 25 dniach
I	11,78	386,5	5,24	82,98 ^{a,d}	42,3	635
II	15,32	377,5	7,8	76,88 ^{a,c}	44,6	731
III	11,70	373,0	9,1	79,2 ^b	44,7	768
IV	6,94	408,0	4,17	88,89 ^{b,c,d}	43,3	764

Objaśnienie: a, b, c, d – istotność różnic przy $p \leq 0,01$.

Tab. 2. Zmiany anatomopatologiczne zarodków zamarych (%)

Rodzaj zmian	Grupa			
	I	II	III	IV
Wady ułożenia	6,02	6,75**	4,41	3,37
Odkształcenia morfologiczne	2,09	2,08	2,13	2,0
Retencja białka	5,23**	4,16*	2,93	1,80
Opóźnienie oddychania płucami	3,7	4,7	3,2	3,0
Liczba wad na 1 nałożone jajo	0,27	0,29	0,26	0,20

Objaśnienia: * istotność różnic przy $p \leq 0,05$, ** przy $p \leq 0,01$.

* co stanowi 100-krotną dawkę leczniczą

** co stanowi 40-krotną dawkę leczniczą

Tab. 3. Obraz histopatologiczny wycinków wybranych narządów u piskląt po wylęgu

Narząd	Grupa		
	I	II	IV
Wątroba	wakuolizacja hepatocytów	wakuolizacja hepatocytów	wakuolizacja hepatocytów
Śledziona	bez zmian	bez zmian	bez zmian
Nerki	nieznaczne skupisko heterofili (12%)	wakuolizacja nabłonka cewek, naciek heterofili	nieznaczne skupiska heterofili (14%)
Mięsień sercowy	ogniskowy rozpad ziarnisty, skupiska heterofili (30%)	ogniskowy rozpad ziarnisty, naciek heterofili (30%)	ogniskowy rozpad ziarnisty, skupiska heterofili (12%)
Grasica	znaczna makrofagocytoza w warstwie korowej	makrofagocytoza mniej nasilona	makrofagocytoza w warstwie korowej
Torba Fabrycjusza	znaczna makrofagocytoza, naciek heterofili	znaczna makrofagocytoza	znaczna makrofagocytoza, skupiska heterofili

w porównaniu do grup kontrolnych. W grupie I retencja białka wynosiła 5,23% ($p < 0,01$), w grupie II 4,16% ($p < 0,05$), natomiast w grupie III 2,93% i w grupie IV 1,8% co przedstawiono w tab. 2.

Pozostałe wyniki nie dają podstaw do stwierdzenia, aby Lydium KLP uznać za preparat, którego szkodliwość dałoby się wykryć próbą biologiczną na zarodkach. Nie znaleziono także wyraźnych wpływów pozytywnych na embriony, poza nieznacznie wyższą aktywnością immunologiczną kurcząt szczepionych po wylęgu.

Wskaźniki wylęgu, masa ciała wylęzonych piskląt oraz średni czas przeżycia embrionów zamaryłych przedstawiono w tab. 1. Jakkolwiek śmiertelność zarodków w grupie I i III była zbliżona, to średni ich czas przeżycia był wyższy w grupie I.

Wylęgi piskląt zróżnicowane były (tab. 1) nawet między grupami doświadczalnymi ($p < 0,01$). Nie znaleziono jednak różnic statystycznie istotnych między grupą I, której wyląg wynosił 82,98% a kontrolną grupą IV o wskaźniku wylęgu 88,98%, a także między grupą II lęzoną na poziomie 76,88% a kontrolną II o wyniku wylęgu 79,2%. Wypada zaznaczyć, że w grupie pilotowej, lęzonej w małych grupach wskaźniki wylęgu grup doświadczalnych kształtowały się odwrotnie. Z badań wynika, że badany preparat nie chronił całkowicie zarodków traktowanych, lecz zmniejszył nieistotnie brakowanie piskląt i przedłużył nieznacznie czas przeżycia zarodków zamaryłych.

W warunkach doświadczalnych nie zauważono wpływu na masę ciała kurcząt (tab. 1) odnotowaną przez Rutkowskiego i wsp. (7), jakkolwiek pisklęta odchowywano bez strat od startu aż do końca tuczu.

Obraz sekcyjny zamaryłych embrionów przedstawiono w tab. 2. Poza wspomnianą retencją białka w grupach doświadczalnych, obserwowano wyższy odsetek II wady ułożenia wg Marschalla, szczególnie w grupie II ($p < 0,05$), która wskazuje na trudności rewersji ciała zarodka do położenia fizjologicznego, w przypadku istnienia tej wady przed 8 dobą embriogenezy. Nie ustalono żadnych podejrzeń o wpływ teratogeny preparatu, uszkodzenia narządów lub opóźnienie w rozwoju.

W badaniu histopatologicznym wycinków wątroby, śledziony, nerki, mięśnia sercowego, grasicy i torby Fabrycjusza pobranych od piskląt bezpośrednio po wylęgu nie stwierdzono wyraźnych różnic między badanymi grupami, które należałoby uznać za proces uszkodzenia (tab. 3). Niemniej opisany obraz mikroskopowy występował w grupie I i II u niewielkiej liczby piskląt.

Nie znaleziono także wyraźnych różnic w kształtowaniu się podstawowych parametrów biochemicznych u tych samych piskląt (tab. 4), z wyjątkiem niewielkiego wzrostu fosfatazy alkalicznej w grupie II ($p < 0,05$). Interpretacja jest trudna, bowiem w grupie III, otrzymującej do białka PBS obserwowano obniżkę AspAT i fosfatazy alkalicznej, czego za-

Tab. 4. Kształtowanie się parametrów biochemicznych u piskląt ($n = 10$; $\bar{x} \pm s$)

Grupa	Białko całkowite (g/dl)	AIAT (IU/l)	AspAT (IU/l)	BUN (mg/dl)	Kwas moczowy (mg/dl)	Fosfataza alkaliczna (IU/l)	Kreatynina (mg/dl)
I	1,61 ± 0,13	18,4 ± 2,0	221,0 ± 15,3	8,4 ± 0,96	4,93 ± 1,02	1697,1 ± 191,2	0,22 ± 0,04
II	1,49 ± 0,12	20,8 ± 3,1	202,9 ± 4,0	8,5 ± 1,08	6,15 ± 1,58	1941,3 ± 78,7*	0,24 ± 0,05
III	1,50 ± 0,10	21,1 ± 2,6	189,6 ± 15,3*	8,3 ± 0,94	4,97 ± 0,79	1498,2 ± 37,7*	0,22 ± 0,04
IV Kontrola	1,70 ± 0,08	27,6 ± 5,2	232,8 ± 12,7	8,3 ± 0,95	5,54 ± 0,79	1715,2 ± 102,2	0,22 ± 0,04

Objaśnienie: * różnica istotna w porównaniu do kontroli przy $p \leq 0,05$.

Tab. 5. Wylęg piskląt (%) w różnym czasie od naklucia do wyjścia ze skorupy (godz.)

Grupa	Liczba godzin od naklucia do wylęgu			Średni czas od naklucia do wylęgu
	< 2	6	12-24	
I	10,68	33,83	55,49	9 godz. 55 min
II	10,12	40,49	49,92	9 godz. 25 min
III	15,10	42,0	42,90	8 godz. 30 min
IV	14,50	40,50	45,0	8 godz. 45 min

rodki kontrolnej (grupa IV) i otrzymujące Lydium KLP nie wykazywały.

Nie udało się także wykryć różnic w kształcie diagramów lęgu i klucia w żadnej z badanych grup. Szczególnie czułym testem jest indywidualne obliczanie dla każdego jaja czasu końcowego rozwoju zarodka od chwili przebiccia skorupy do jej opuszczenia. Jest to okres niezbędny do zakończenia oddychania płucami i zrostu powłok brzusznych po odcięciu pępowiny. Zarodki opóźniając embriogenezę z rozmaitych przyczyn wydłużają czas od naklucia do wylęgu. Mimo braku różnic statystycznych zarysowuje się niewielka tendencja w grupach doświadczalnych I i II do wydłużania czasu przebywania w skorupie po nakluciu, szczególnie u zarodków szybko lęgnących się (poniżej 2 h), co przedstawiono w tab. 5.

Badanie serologiczne kurcząt w kierunku poziomu przeciwciał HI anty ND 2 tyg. po szczepieniu przedstawiono w tab. 6. Pomimo, że preparat Lydium KLP został podany we wczesnym okresie prenatalnym, jego działanie immunostymulujące uwidoczniło się w okresie postnatalnym w grupie I, która otrzymała najwyższe stężenie preparatu. Potwierdzają to badania wykonane przez Samorek-Salamonowicz (8) przeprowadzane na kurczętach z zastosowaniem innych antygenów. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji można stwierdzić, że preparat Lydium KLP jest nieszkodliwy dla embrionów kurzych. Z wpływów niekorzystnych obok retencji białka u zarodków zamartwych udało się ustalić nieznaczne wydłużenie średniego czasu od naklucia skorupy do jej opuszczenia, co wskazuje na potraktowanie preparatu przez embriony jako substancji heterologicznej. Nie wykazano działania teratogen-

Tab. 6. Poziom specyficznych przeciwciał HI przeciwko wirusowi rzekomego pomoru drobiu u kurcząt w 2 tyg. po szczepieniu

Oznaczone mierniki	Grupa			
	I	II	III	IV
Procent mian dodatnich	90	50	70	0
Średnie miano arytmetyczne	10,8	9,0	9,0	2,4
Log średniego miana geometrycznego	3,3	2,7	2,8	1,2

nego ani uszkodzeń morfopatologicznych u zarodków i piskląt po wylęgu. Preparat ten nie wpłynął także na podstawowe wskaźniki biochemiczne surowicy u piskląt.

Piśmiennictwo

- Borzemska W., Karpińska E., Kosowska G., Szeleszczuk P., Binek M., Malicka E., Malec H., Niedziółka J.: Medycyna Wet. 52, 778, 1996.
- Borzemska W., Karpińska E., Szeleszczuk P., Binek M., Malicka E., Kosowska G., Malec H.: Medycyna Wet. 51, 745, 1995.
- Clark A. G., Bueschgens D. H.: J. Food Prot. 49, 135, 1986.
- Gibbins A. M.: Agri-food Res. 19, 39, 1996.
- Kiczka W.: Życie wet. 69, 131, 1994.
- Mamczur J., Mazurkiewicz M.: Mat. X Kongresu PTNW, Wrocław 2, 350, 1996.
- Rutkowski A., Kiczka W., Janicki Cz.: Pol. Drob. 4, 16, 1995.
- Samorek-Salamonowicz E.: (Informacja ustna).
- Święcicka-Grabowska G., Wiśniewski J., Rotkiewicz Z.: Mat. X Kongresu PTNW, Wrocław 2, 436, 1996.
- Trziszka T.: Arch. Geflügelk. 58, 49, 1994.
- Trziszka T., Kopeć W.: Magazyn Drob. 1, 43, 1996.

Adres autora: prof. dr hab. Wanda Borzemska, ul. Perzyńskiego 8 m. 18, 01-872 Warszawa

ANDREWS A.: Zatrucie ciążowe u owiec. (Pregnancy toxemia in ewes). In Practice 19, 306-312, 1997 (6)

Zatrucie ciążowe występuje często w ciężkiej postaci pod koniec ciąży i stanowi ważny problem zdrowotny w intensywnym chowie. Niekiedy dotyczy ono 40% owiec w stadzie. U większości owiec z zatruciem spada stopniowo stężenie glukozy w płazmie i wzrasta stężenie ciał ketonowych (zwłaszcza β -hydroksymaślanu). W początkowej fazie zatrucia stężenie β -hydroksymaślanu wynosi niewiele ponad 3,0 mmol/L. U około 20% owiec zatruciu towarzyszy hypokalcemia związana z wysokim poziomem kortyzolu we krwi. Dochodzi też do uszkodzenia wątroby o czym świadczy wzrost aktywności aminotransferazy asparaginianowej i dehydrogenazy glutaminowej, wzrasta poziom mocznika we krwi spowodowany katabolizmem, dekompozycją płodów względnie mocznicą. Padłe zwierzęta są albo wychudzone lub w dobrej kondycji, wątroba jest z reguły powiększona, zwyrodniała tłuszczowo. Płody mogą zamierać i ulegać autolizie. W korze powiększonych nadnerczy występują wybroczyny.

G.

BUSSEL K. M., KINDER A. E., SCOTT P. R.: Porażenie tylnego odcinka ciała u jagnięcia spowodowane przez cystę *Coenurus cerebralis* umiejscowioną w odcinku lędźwiowym rdzenia kręgowego. (Posterior paralysis in a lamb caused by a *Coenurus cerebralis* cyst in the lumbar spinal cord). Vet. Rec. 140, 560, 1997 (21)

Porażenia tylnego odcinka ciała występują sporadycznie u jagniąt i są efektem zmian zapalnych, ropni kręgołupa lub ropni epiduralnych, które uciskają na odcinek tylny rdzenia kręgowego. *Coenurus cerebralis* usadawia się z reguły w mózgu lub w mózdzku owiec i jagniąt. U 8 miesięcznego jagnięcia *C. cerebralis* umiejscowił się w okolicy lędźwiowej rdzenia kręgowego powodując porażenie miednicznego odcinka ciała. U 4 jagniąt wystąpiły zaburzenia behawioru, u jednego porażenie tylnego odcinka ciała. Sekcja potwierdziła obecność u jagnięcia z porażeniem owalnej cysty (4,0x0,9 cm) usytuowanej w okolicy lędźwiowej rdzenia kręgowego.

G.