

E. coli, *Bacillus* sp., *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, a także niesidentyfikowane pałeczki. Osemenienie ejakulatami, zawierającymi do 300 tys. mikroorganizmów/ml, dało około 81,0 % отсутствия вторичной охоты, ejakulatami, содержащими от 300—500 тыс. микроорганизмов/ml, обуславливало снижение до 78,7 %, а свыше 500 тыс./мл до 73,8 %. Между исходным содержанием микроорганизмов в сперме, а ей оплодотворяющей способностью констатировано незначительную отрицательную корреляцию $r = -0,202$. Не установлено зависимости между количеством микроорганизмов в консервированной сперме в течение 80 часов, а ей оплодотворяющей способностью. У быков, в сперме которых среднее содержание микроорганизмов равнялось свыше 300 тыс./мл спермы, оплодотворяемость была ниже чем у быков с меньшим средним содержанием микроорганизмов в сперме.

Romaniuk J. — The influence of the microorganisms of the semen on its fertilizing ability.

The mean number of bacteria in 152 ejaculates from 20 AI bulls was found to be 177.809 ± 21.000 of microorganisms/ml. The following species were found in the examined ejaculates: *Micrococcus*, *E. coli*, *Bacillus* sp., *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* and unidentified Gram negative rods. Inseminations performed with semen from ejaculates containing less than 300.000 microorganisms/ml — gave 81.0% NR (estimated on the 60 days basis), from ejaculates containing 300—500.000 organisms/ml 78,7% NR, and from ejaculates contaminated by more than 500.000 bacteria/ml — 73,8% NR resp. There was found a negative correlation of $r = -0.202$ between the initial number of bacteria in the semen and its fertilizing capacity. No correlation was found between the number of bacteria in IVT semen stored at room temperature for 80h and its fertilizing capacity. Bulls which produced semen contaminated by more than 300.000 bacteria/ml — were less fertile than those producing less contaminated semen.

Romaniuk J. — L'influence de la présence de certains microorganismes du sperme sur son aptitude de fécondation.

Dans 152 éjaculations, provenant de 20 taureaux on constata en moyenne 21.000 microorganismes/ml du

sperme. La flore bactérielle du sperme examiné contenait les espèces suivantes de microorganismes: *Micrococcus*, *E. coli*, *Bacillus* sp., *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* ainsi que des bacilles gram-négatifs non identifiés. L'insémination à l'aide d'éjaculations, contenant jusqu'à 300.000 microorganismes/ml donna environ 81,0% de fécondations, les éjaculations contenant de 300.000—500.000 microorganismes/ml démontraient une baisse de fécondation à 78,7%, et ceux, contenant plus de 500.000/ml jusqu'à 73,8%. On constata une corrélation négative peu élevée $r = -0.202$ entre le contenu des microorganismes dans le sperme au point du départ et son aptitude de fécondation. On ne constata pas de dépendance entre le nombre de microorganismes dans le sperme conservé pendant 80 heures et sa faculté de fécondation. Les taureaux dans le sperme desquels on constatait un contenu moyen de microorganismes plus élevé que 300.000/ml — démontraient une fécondité moins grande que les taureaux, chez lesquels la moyenne des microorganismes dans le sperme était moins élevée.

Romaniuk J. — Einfluss mancher Spermamikroorganismen auf seine Zeugungsfähigkeit.

In 152 Eiakulaten von 20 Bullen wurden durchschnittlich 177.809 ± 21.000 Mikroorganismen/ml Sperma festgestellt. Die Bakterienflora der untersuchten Spermastämme bestand aus: *Micrococcus*, *E. coli*, *Bac* sp., *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* sowie aus nicht identifizierten gramnegativen Stäbchen. Die Besamung mit bis 300.000 enthaltenden Mikroorganismen/ml lieferte beinahe 81% Mangel an neuerlichem Trieb, mit Eiakulaten von 300 bis 500 Tausend Mikroorganismen/ml erniedrigte sich die Zahl auf 78,7% und über 500.000/ml bis 73,8%. Zwischen dem Ausgangsinhalt der Spermamikroorganismen und seiner Zeugungsfähigkeit wurde eine niedrige negative Korrelation $r = -0.202$ beobachtet. Eine Abhängigkeit zwischen der Menge der Mikroorganismen im durch 80 Stunden konservierten Sperma und seiner Zeugungsfähigkeit ist nicht wahrgenommen worden. Bullen, bei welchen im Sperma ein mittlerer Inhalt über 300.000/ml Sperma bestand, wiesen eine niedrigere Zeugungsfähigkeit als die Tiere von kleinerer mittlerer Menge der Spermamikroorganismen, auf.

FIZJOLOGIA I FIZJOPATOLOGIA

FELICJA HERTZ-ŁUKAŃSKA

Alfa-amylaza krwi trzody chlewnej

Katedra Chemii Fizjologicznej Wydz. Wet. SGGW w Warszawie

Kierownik: prof. dr STEFAN NYREK

Badania enzymologiczne znajdują coraz większe zastosowanie w naukach biologicznych. Przyczyniają się do wyjaśnienia skomplikowanych procesów przemiany materii zachodzących w żywych organizmach, są pomocne w diagnostyce i ułatwiają postawienie właściwego rozpoznania. Z tego też względu oznaczenia aktywności enzymatycznej płynów ustrojowych zalicza się dziś do podstawowych, pomocniczych badań laboratoryjnych.

Od dawna są znane pewne zależności pomiędzy aktywnością alfa-amylazy surowicy, a schorzeniami przewodu pokarmowego, w tym głównie trzustki, wątroby i ślinianek (2, 3, 4, 5, 6 i inni). Oznaczenie alfa-amylazy surowicy i moczu u ludzi jest rutynowym badaniem laboratoryjnym, stosowanym przy rozpoznaniu wielu procesów patologicznych.

W zakresie badań alfa-amylazy krwi zwierząt domowych niewiele zostało do tej pory zrobione. Brak

nawet dokładnych danych dotyczących norm fizjologicznych, które ze względu na różnice w żywieniu oraz specyficzną przemianę materii, nastawioną najczęściej jednokierunkowo, mogłyby dostarczyć wielu ciekawych spostrzeżeń.

Celem niniejszej pracy było oznaczenie aktywności alfa-amylazy składowych części krwi i krwi pełnej trzody chlewnej w warunkach fizjologicznych.

Materiał i metody

W badaniach własnych zastosowano do oznaczania aktywności alfa-amylazy metodę Street, Close (10), opartą na pomiarach kolorymetrycznych kompleksu amylaza — jod.

Substrat amylaza wprowadzony przez autorów metody do oznaczania amylazy wydaje się bardziej od-

powiedni niż skrobia. Skrobia jest wielocukrem niejednorodnym pod względem budowy, a stopień jej enzymatycznego rozkładu jest w dużej mierze uzależniony od sposobu preparowania (9).

Amylozę otrzymano wg wskazań autorów ze skrobi. Preparat porównano dodatkowo z handlową amylozą firmy The British Drug Houses Ltd. Poole, Dorset oraz z próbkami przysłanymi z pracowni H. V. Street.

a) *Dobór zwierząt doświadczalnych.* Oznaczenia aktywności alfa-amylazy przeprowadzono w surowicy, osoczu, krwinkach i krwi pełnej u 30 sztuk trzody chlewnej. Badania wykonano trzykrotnie w mniej więcej 30-dniowych odstępach czasu. Wiek zwierząt wahał się od 3 do 8 miesięcy. Zwierzęta przeznaczone były na tucź, nie wykazywały objawów chorobowych i dawały wysokie przyrosty wagi. Pozostawały pod stałą opieką lekarsko-weterynaryjną i zootechniczną. Z badań laboratoryjnych wykonano dodatkowo oznaczenia zawartości białka i frakcji białkowych w surowicy, analizę morfologiczną krwi oraz procentową zawartość hemoglobiny.

Krew od zwierząt pobierano z żyły usznej. Do analiz krwinek, osocza i krwi pełnej stosowano krew heparynizowaną. Krwinki po odciążeniu osocza przemywano trzykrotnie roztworem fizjologicznym, a następnie poddawano hemolizie.

b) *Metoda obliczeń statystycznych.* Wyniki ilościowe aktywności alfa-amylazy krwi trzody chlewnej w jednostkach Street, Close (10) ujęto statystycznie przy pomocy wzorów wyznaczających średnią arytmetyczną (\bar{x}), średnie odchylenie (sigma), średni błąd średniej arytmetycznej (m). Obliczenia porównawcze przeprowadzono z zastosowaniem znanego testu t , przyjmując prawdopodobieństwo wiarygodności średnich arytmetycznych (P) w 99%, co odpowiada wartości $t = 2,8$. W związku z powyższymi wynikami wartości t przekraczające liczbę 2,8 przyjęto za statystycznie znamienne.

W celu określenia średniej dla zbiorowości generalnej zastosowano przedział ufności.

Wyniki oznaczeń aktywności alfa-amylazy krwi trzody chlewnej zostały zestawione na zamieszczonych poniżej tabelach i wykresie:

Tab. 1. Zestawienie statystyczne wyników oznaczeń aktywności alfa-amylazy krwi trzody chlewnej

B a d a n i e I			
n = 30	\bar{x}	sigma	m
Surowica	421	97	23
Osocze	417	96	17,5
Krew pełna	327	86	15,7
Krwinki	22,6	12	2,2

\bar{x} = średnia arytmetyczna, sigma = średnie odchylenie, m = średni błąd średniej arytmetycznej.

Uwaga: w powyższej tabeli uwzględniono jedynie wyniki uzyskane z badania pierwszego, ze względu na fakt, że porównanie wyników trzech badań nie wykazało istotnych różnic.

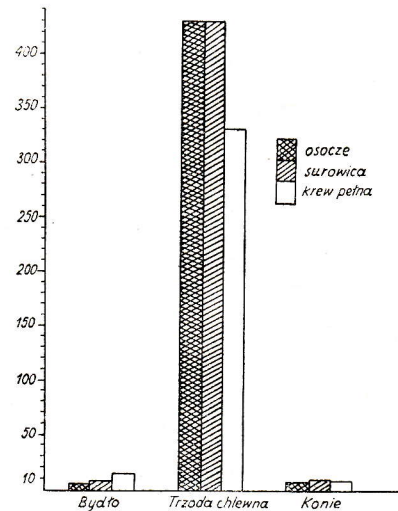
Tab. 2. Przedział ufności aktywności alfa-amylazy krwi trzody chlewnej (w jednostkach Street-Close na 100 ml)

	A	B
Surowica	374,0	478,9
Osocze	371,5	475,8
Krew pełna	270,4	367,8
Krwinki	16,9	28,9

A = dolna granica przedziału ufności
B = górna granica przedziału ufności

Tab. 3. Porównanie aktywności alfa-amylazy krwi pełnej, surowicy i osocza trzody chlewnej

Błąd różnicy średnich arytm. dla:	t
Surowicy i osocza	0,16
Krw. pełnej i surowicy	3,94
Krw. pełnej i osocza	3,83



Aktywność alfa-amylazy osocza, surowicy i krwi pełnej trzody chlewnej w zestawieniu z wynikami uzyskanymi u bydła i koni.

Omówienie wyników

W grupie trzody chlewnej liczącej 30 sztuk zwierząt w wieku od 3 do 8 mies. otrzymano bardzo wysokie wartości charakteryzujące aktywność alfa-amylazy surowicy, osocza i krwi pełnej (tab. 1 i 2). Najwyższe wyniki otrzymano z badań surowicy i osocza, nieco niższe stwierdzono we krwi pełnej, a bardzo niskie dla krwinek hemolizowanych (tab. 1 i 2).

Średnia aktywność alfa-amylazy surowicy wynosi 421 jedn. S. C. na 100 ml (tab. 1), a więc przewyższa przeszło czterdziestokrotnie wartości uzyskane z doświadczeń prowadzonych z surowicą bydłą i końską (wykres 1), a około dwudziestokrotnie średnią wartość przyjętą za fizjologiczną normę u ludzi. Należy dodać, że niektóre próby surowicy trzody chlewnej wykazywały aktywność około 600 jednostek S. C., przy najniższej równej 200,2 jedn. S. C. na 100 ml.

Aktywność alfa-amylazy krwi pełnej trzody chlewnej waha się w granicach od 270,4 do 367,8 jedn. S. C. (tab. 2). Najniższe wartości uzyskano w badaniach aktywności enzymatycznej płukanych krwinek (tab. 1 i 2).

Porównanie aktywności alfa-amylazy surowicy i osocza (tab. 3) nie wykazało różnic statystycznych, wyraźne natomiast różnice występują przy porównaniu aktywności amylolitycznej krwi pełnej z aktywnością surowicy i osocza (tab. 3).

Dyskusja

Kolb (7) posługując się metodą Somogyi i Folin-Wu badał aktywność alfa-amylazy surowicy trzody chlewnej. Należy podkreślić, że średnia aktywność enzymu surowicy trzody chlewnej podana przez wspomnianego autora niewiele się różni od wartości podanych przez niego dla surowicy bydłowej. W świetle przedstawionych badań własnych dane Kolba (7) budzą pewne zastrzeżenia. Mając na względzie szybkość procesów asymilacyjnych zachodzących w organizmie trzody chlewnej, właśnie od strony metabolizmu cukrowców, można przypuszczać, że towarzyszyć im może wzmocniona aktywność amylolityczna

krwi. Za takim poglądem przemawia także fakt, że trzustka świni od dawna stanowiła dogodny materiał do otrzymywania krystalicznej alfa-amylazy (8). Jeden kilogram trzustki wieprzowej zawiera około 2000—3000 mg alfa-amylazy, podczas gdy np. jeden kilogram trzustki ludzkiej zawiera jedynie około 200 mg tego enzymu (1).

Interesujący jest fakt stosunkowo niskiej aktywności alfa-amylazy krwinek, na tej podstawie można by przypuszczać, że enzym jest związany przede wszystkim z cśoczem, a tylko w niewielkim stopniu z elementami morfotycznymi krwi.

Wnioski

1. Aktywność alfa-amylazy surowicy i osocza trzody chlewnej jest wyjątkowo wysoka i waha się w granicach od 371,5 do 478,9 jedn. S. C. Nie stwierdza się różnic w aktywności amylolitycznej surowicy i osocza.

2. Aktywność amylazy krwi pełnej jest istotnie niższa od aktywności alfa-amylazy surowicy i osocza.

3. Płukane krwinki wykazują niską aktywność enzymatyczną.

Piśmiennictwo

1. *Aberhalden R.*: Klinische Enzymologie. Georg. Thieme Verlag 1958 Stuttgart.
2. *Appelbaum I. L.*: Serum Amylase in Mumps. Ann. Int. Med. 21, 35 (1944).
3. *Chojęcki Z.*: Wpływ chorób narządu trawienia na stan czynnościowy trzustki. Pol. Arch. Med. Wewn. 1/1, 2, 3 (1956).
4. *Elman R.*: Acute pancreatitis an the laboratory. Surg. Gyn. Obst. 100, 241 (1955).
5. *Januszkiewicz J.*: Znaczenie badania poziomu diastazy we krwi i moczu w rozpoznawaniu nagminnego zapalenia przyzusznic. Pol. Tyg. Lek. 48 (1956).
6. *Katsch G.*: Über die Klinik Pancreaskrankheiten. Gastroenterologia 78, 1 (1952).
7. *Kolb E.*: Untersuchungen über die normale Schwankungsbreite der Serumfermente (Diastase, Lipase, säure and alkalische Phosphatase) beim Schwein. Zbl. für Veterinärmed. 2, 5 (1955).
8. *Myrbäck K., Neumüller G.*: Stärke und Glykogen, Enzymatische Synthese und Hydrolyse. Ergebnisse der Enzymforschung XII Bd. Leipzig (1951).
9. *Nowotny F.*: Mechanizm rozkładu skrobi przez alfa i beta amylazy. Post. Bioch. 1, 3 (1955).
10. *Street H. V., Close J. R.*: Determination of amylase activity in biological fluid. Clin. Chim. Acta 1, 3 (1956).

Adres autora: dr Felicja Hertz-Lukańska, Warszawa 26, ul. Grochowska 272.

Герц-Лукањска Ф. — Альфаамилаза в крови свиной.

Определено активность альфаамилазы сыворотки, плазмы, цельной крови и эритроцитов у 30 свиной. Исследование проводили три раза с ок. 30 дневными прожеутками. Активность энзима определяли колориметрически по Street и Close, применяя в качестве субстрата специальный препарат амилолызы.

Установлено особенно высокую активность эн-

зима в сыворотке и в плазме свиной (371,5—479 e.s.c./100 мл), незначительно ниже в цельной крови (270,4—367,8 e.s.c./100 мл). Активность отмьтых эритроцитов оказалась очень низкой (16,9—28,9 e.s.c.).

Hertz-Lukańska F. — Alpha-amylase in the blood of swine.

The activity of alpha-amylase of serum, plasma, full blood and corpuscles in 30 swine was determined. The investigations were carried out 3 times at intervals of about 30 days. The activity of the enzyme was determined by the colorimetric method of H. V. Street and J. R. Close, using a special preparation of amylose as substrate.

As a result of the investigations, an exceptionally high amyloytic activity of serum and plasma in swine was found (371.5—478.9 U. S. C. per 100 ml), and slightly lower values were obtained from the investigations of full blood (270.4 to 367.8 U. S. C. per 100 ml).

Investigations on the rinsed corpuscles gave very low values (16.9 to 28.9 U. S. C.).

Hertz-Lukańska F. — L'alpha — amylase sanguine des porcins.

L'auteur définit l'activité de l'alpha-amylase du sérum, du plasma, du sang complet et des globules sanguines chez 30 porcins. Les investigations étaient effectuées 3 fois dans des intervalles de 30 jours. L'activité de l'enzyme était définie à l'aide de la méthode colorimétrique de H. V. Street, J. R. Close en employant comme substrate une préparation d'amylose spéciale.

On constata une activité amyloïdique du sérum et du plasma des porcins exceptionnellement élevée (371,5—478,9 u S. C./100 ml), des valeurs un peu moins élevées du sang complet (270,4—367 u S. C./100 ml) tandis que les investigations effectuées sur des globules sanguines lavées démontrèrent des valeur très peu élevées (16,9—28,9 u S. C.).

Hertz-Lukańska F. — Alfa-amylase im Schweineblut.

Es wurde die Aktivität der Alfa-amylase im Blutserum, Plasma, vollem Blut, Blutkörperchen bei 30 Schweinen bestimmt. Die Untersuchungen wurden 3 Mal im Zeitraum von ca 30 Tagen ausgeführt. Die Enzymaktivität ist kolorimetrisch nach H. V. Street, J. R. Close mit Benützung als Basis eines speziellen Amylosepräparats bestimmt worden. Im Endergebnis der Untersuchungen wurde eine ausnahmsweise hohe amyloische Aktivität im Serum und Plasma der Schweine (371.5 bis 478 Einheiten S. C. auf 100 ml), etwas niedrigere Werte wurden aus den Untersuchungen des vollen Blutes (270.4 bis 387.8 Einheiten S. C. auf 100 ml) erlangt. Dagegen gänzlich niedrige Werte lieferten die auf ausgewaschenen Blutkörperchen durchgeführten Untersuchungen (16.9 bis 28.9 Einheiten S. C.).

ALINA KOSTELECKA-MYRCHA

Sezonowe wahania wskaźników morfologicznych krwi ssaków

Zakład Badania Ssaków PAN w Białowieży
Kierownik: dr ZDZISŁAW PUCEK

Dotychczas tylko niewielu autorów, zajmujących się opracowywaniem morfologii krwi zwierząt, zwróciło uwagę na zmiany sezonowe badanych wskaźników. Poznanie prawidłowości tych wahań jest niewątpliwie interesujące nie tylko z teoretycznego punktu widzenia, ale ma przede wszystkim znaczenie praktyczne. Poznanie zmian ogólnej liczby leukocytów i ich poszczególnych form może dać nam informacje o przygotowaniu organizmu do przeciwstawiania się infekcjom w różnych sezonach, a także

w powiązaniu z badaniami nad sezonowością rozwoju epizootii, może zwiększyć możliwości pomyślnej walki z nimi.

O tym, że sezonowe wahania liczby leukocytów należy wiązać ze zmieniającymi się okresowo warunkami bytowania zwierząt, mogą świadczyć wyniki badań *Silovej* (1949), która obserwowała u *Apodemus flavicollis* (*Melchior*, 1834) minimum latem, a zimą wzrost ilości leukocytów. Podobnie *Kuksowa* (1959) stwierdziła maksymalną ilość białych ciałek we krwi