

# FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

JERZY MAZURCZAK

## Analiza immunoelektroforetyczna śluzu szyjki macicznej krów. I. Zastosowanie immunoelektroforezy jako pomocniczej metody diagnostycznej

Katedra Fizjopatologii Wydziału Wet. SGGW w Warszawie  
Kierownik: doc. dr J. MAZURCZAK

Postęp w rozwiązywaniu problemów dotyczących diagnostyki i patogenetyki całego szeregu jednostek chorobowych jest uwarunkowany, między innymi, zastosowaniem coraz doskonalszych metod badawczych.

W ostatnich latach jesteśmy świadkami adaptowania różnych metod chemicznych i fizycznych do celów diagnostyki klinicznej. Metody te umożliwiają bardziej wnikliwe śledzenie zaburzeń wewnątrzustrojowych. Opanowanie tych metod i umiejętność posługiwania się nimi staje się oddzielnym problemem. Zwłaszcza przy bardziej złożonych metodach badawczych, zagadnienie interpretowania otrzymywanych wyników, jakie się uzyskuje stosując daną metodę, wymaga specjalnego przygotowania.

Powyższe uwagi dotyczą również zastosowania metody immunoelektroforezy do celów diagnostycznych.

Z tych względów, przed omówieniem zasadniczych badań, które są treścią następujących prac, uznano za celowe przedstawienie ogólnych zasad samej metody immunoelektroforezy. Postępowanie takie uznano tym bardziej za celowe, ponieważ omawiana metoda od niedawna została wprowadzona na szerszą skalę, jako metoda diagnostyczna.

W początkowym stadium opracowywania autorzy nie przewidywali, że analiza immunoelektroforetyczna białek znajdzie tak szerokie zastosowanie w chemii klinicznej. (6).

W niedługim czasie po opublikowaniu i sprawdzeniu jej walorów pojawiły się prace wskazujące na duże możliwości zastosowania tej metody do celów diagnostycznych. Przede wszystkim wykazano dużą jej przydatność w rozpoznawaniu defecto- i paraproteinemii, tj. braku pewnych frakcji białkowych, względnie występowaniu białek patologicznych.

Następne lata przyniosły bardzo dużą ilość publikacji, które wykazały, że metoda immunoelektroforezy ma zastosowanie nie tylko w rozpoznawaniu wyżej wymienionych zmian. Dzięki dużej czułości tej metody, pozwalającej wykryć ilości białka wynoszące 0,02 mcg, zastosowano ją do analizy białek w różnych procesach chorobowych (7).

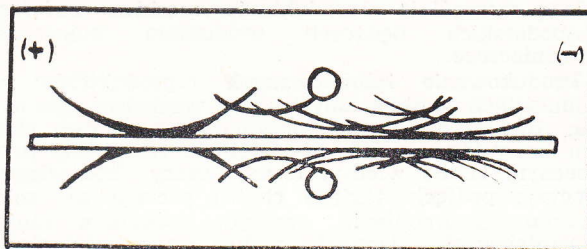
Na temat samej metody, jak również możliwości jej zastosowania w klinice chorób wewnętrznych, ogłoszono szereg prac w literaturze światowej i piśmiennictwie krajowym (1, 2, 3, 4, 14). Inne dziedziny medycyny również z dużym powodzeniem stosują badania immunoelektroforetyczne jako badania pomocnicze. Ponieważ w polskim piśmiennictwie weterynaryjnym nie spotkano się z odpowiednimi opracowaniami, poświęconymi możliwościom i perspektywom stosowania tej metody, wydaje się celowe, aby w nieco szerszym zakresie omówić zasadę immunoelektroforezy oraz wykazać możliwość jej stosowania w rozwiązywaniu problemów dotyczących niektórych chorób zwierząt domowych.

W światowej literaturze weterynaryjnej pojawiły się w ostatnich latach prace, które zostały wykonane w oparciu o metodę immunoelektroforezy agarowej.

W niniejszej pracy znacznie mniej miejsca poświęcono zagadnieniom czysto metodycznym, natomiast

zwrócono uwagę głównie na aspekt merytoryczny tego rodzaju badań.

Pierwsze prace nad immunoelektroforezą należą do Grabara i wsp. (6). Autorzy ci połączyli dwie znane metody, jakimi jest elektroforeza agarowa i metoda podwójnej dyfuzji agarowej, w jedną całość, tworząc nową metodę, którą nazwano metodą immunoelektroforezy. Dla zilustrowania wyniku takiego postępowania załączono immunoelektroforogram (ryc. 1).



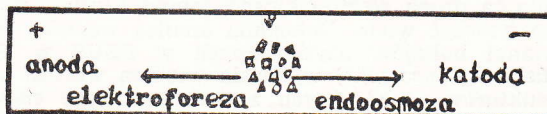
Ryc. 1. Immunoelektroforogram surowicy krwi (u góry) i cielęcia (u dołu)  
Widoczne na ryc. 1 łuki określane terminem „linii precipitacyjnych” są wynikiem reakcji między przeciwciałami (naniesionymi do basenika podłużnego) i poszczególnymi frakcjami białek.

Tak, jak wspomniano wyżej, wyróżniamy tu dwa zasadnicze etapy:

I — rozfrakcjonowanie białka badanego lub innego antygenu w polu elektrycznym

II — powstawanie precipytyn rozfrakcjonowanych białek po dodaniu odpowiedniego antyserum zawierającego przeciwciała specyficzne dla badanych antygenów.

Rozfrakcjonowanie badanych białek (lub innych związków o właściwościach antygenowych) w środowisku agarowym jest postępowaniem w miarę ujednoczonym i nie budzącym wątpliwości. Zjawiska fizyko-chemiczne, jakie zachodzą w czasie takiego rozfrakcjonowania przedstawia ryc. 2a i 2b.



Ryc. 2a. Schemat płytki agarowej przed rozdzieleniem surowicy na poszczególne frakcje w polu elektrycznym.



Ryc. 2b. Po zakończeniu rozdzielenia surowicy w polu elektrycznym, schematycznie zaznaczono lokalizację poszczególnych frakcji.

Aby powstały precipytyny (drugi etap wykonywania immunoelektroforezy) dodawane są odpowiednie surowice zawierające przeciwciała specyficzne dla

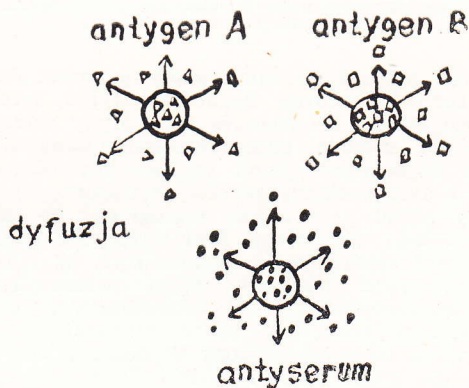
badanych antygenów. W wypadku badań, prowadzonych np. nad białkami krwi, surowicę taką uzyskuje się przez immunizowanie najczęściej królików\*).

W piśmiennictwie, poświęconym tym zagadnieniom, określają surowicę immunizowanych zwierząt terminem „antyserum” np. surowica zwierząt immunizowanych białkami surowicy krwi człowieka określana jest jako „antyserum anty surowica ludzka”, względnie „antyserum surowica ludzka”.

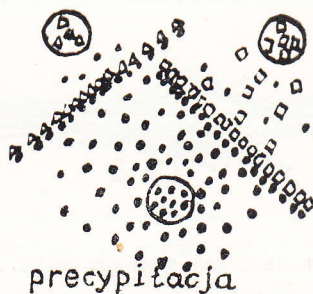
Po dodaniu do odpowiednich baseneków antyserum, w wyniku podwójnej dyfuzji dochodzi do powstawania precypityn, które układają się w charakterystyczne, łukowato wygięte linie. W omawianej metodzie przyjęty został termin: „linie precypitacyjne”, którym określa się wynik reakcji między przeciwciałami zawartymi w antyserum i poszczególnymi frakcjami i podfrakcjami białkowymi, rozdzielonymi w polu elektrycznym. Przebieg omawianych reakcji ilustrują schematy na ryc. 3, 4 i 5.

Ze schematów wynika, że rezultat analizy immunoelektroforetycznej jest przede wszystkim uzależniony od użytego do badania antyserum. Z tych względów, zarówno sposób jego otrzymywania, jak i stosowania wymaga bliższego omówienia.

W medycynie, w większości wypadków badania immunoelektroforetyczne wykonywane są z zastosowaniem antyserum produkowanego przez Instytut Pasteura\*\*), które zawiera przeciwciała specyficzne dla białek surowicy krwi człowieka.



Ryc. 3. Schemat podwójnej dyfuzji w środowisku agarowym



Ryc. 4. Schemat precipitacji powstającej w czasie podwójnej dyfuzji



Ryc. 5. Schemat powstawania linii precipitacyjnych w immunoelektroforogramie. U dołu zaznaczono linią ciągłą basenik zawierający antyserum.

\*) Niektórzy autorzy w celu otrzymania większej ilości surowicy immunizują kozy, natomiast do otrzymywania na skalę przemysłową prowadzona jest immunizacja na koniach.

\*\*) Ponieważ inicjatorem produkowania na skalę masową antyserum był Grabar, twórcą metody immunoelektroforezy, w wielu publikacjach podawane jest powyższe antyserum pod nazwą „antyserum Grabara”.

W wielu ośrodkach, zajmujących się badaniami elektroforetycznymi, wytwarzane jest antyserum we własnym zakresie na królikach. W problematyce weterynaryjnej badania immunoelektroforetyczne są dopiero w fazie początkowej, i z tych względów nie można jeszcze mówić o masowej produkcji odpowiednich zestawów antyserum\*). Konieczność jednak wytwarzania antyserum przez poszczególne ośrodki stwarza możliwości powstawania znacznych rozbieżności wynikających z właściwości otrzymanego antyserum.

Zasadniczym problemem przy ocenie wartości otrzymanego antyserum jest:

1) zagadnienie ilości zawartych przeciwciał w antyserum (miano antyserum) i

2) ich charakter i ukierunkowanie (jakość otrzymanego antyserum).

Ilość zawartych przeciwciał w antyserum zależy od ilości białka użytego do immunizacji i jego właściwości antygenowych, sposobu immunizowania, rodzaju użytego adiuwansu i gatunku immunizowanych zwierząt. Ponieważ zagadnienia te mają aspekt czysto metodyczny i były przedmiotem szeregu publikacji (2, 3) nie jest konieczne ponowne ich omawianie.

Ważniejszym zagadnieniem jest jakościowy skład przeciwciał zawartych w użytym do immunoelektroforezy antyserum. Większość opublikowanych badań w medycynie była wykonywana w ten sposób, że do precipitacji używano antyserum „anty surowica ludzi zdrowych”. Stosując takie antyserum, możemy oczekiwać powstawania linii precipitacyjnych z badanymi białkami surowicy wówczas, gdy białka te nie ulegały zmianom chorobowym. Jest sprawą wątpliwą, czy zmiany białkowe o charakterze dysproteinemii będą w takim wypadku precipitować, a sprawą zupełnie pewną jest fakt, że powstające w trakcie procesu chorobowego nieprawidłowe białka (tj. paraproteiny) w tak wykonanej analizie — zupełnie nie będą precipitować. Jednakże powstające zmiany o charakterze paraproteinowym mogą dawać reakcje krzyżowe z przeciwciałami dla białek „prawidłowych”.

W wypadkach defecto-proteinemii, wyniki jakie otrzymujemy przy zastosowaniu omawianego antyserum są w miarę czytelne, ponieważ zmiany te charakteryzują się również brakiem odpowiedniej linii precipitacyjnej w obrazie immunoelektroforetycznym.

Oddzielnym zagadnieniem są badania immunoelektroforetyczne wykonywane na materiale tkankowym, przy zastosowaniu antyserum „anty białka surowicy”. W takich wypadkach jest sprawą zupełnie oczywistą, że otrzymany obraz jest wynikiem reakcji precipitacyjnej między białkami surowicy zawartymi w tkance, względnie jest to wynik precipitacji. Dlatego też w tego rodzaju badaniach w celu uzyskania właściwego poglądu na skład białkowy danego wyciągu tkankowego, należy stosować specjalne antyserum zawierające przeciwciała właściwe dla danej tkanki.

Przytaczając te uwagi powstaje zasadniczy problem związany z właściwą oceną metody immunoelektroforezy w badaniach diagnostycznych. Problem ten sprowadza się do stwierdzenia, że jeżeli poszukujemy charakterystycznych zmian, np. w układach białkowych dla określonej jednostki chorobowej, czy też zespołu chorobowego, to należy przede wszystkim uzyskać odpowiednie do tych celów antyserum. Antyserum takie powinno zawierać właściwe przeciwciała dla białek chorobowo zmienionych. Wówczas otrzymana precipitacja jest charakterystyczna i porównywana z precipitacją białek niezmienionych daje właściwą odpowiedź.

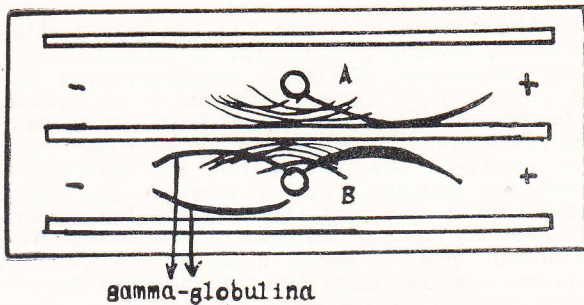
Mimo że tego rodzaju wnioski są zasadnicze dla

\*) F-ma Behringwerke produkuje antyserum dla poszczególnych gatunków zwierząt potrzebne do celów eksperymentalnych.

metody immunoelektroforezy, to jednak wykonywane badania, nawet przy użyciu antyserum anty białka („prawidłowe”), może w początkowej fazie badań dać interesujące wyniki.

W dostępnej literaturze napotkano tylko pojedyncze prace o problematyce weterynaryjnej, w których do celów diagnostycznych zastosowano metodę immunoelektroforezy. Z prac tych należy wymienić przede wszystkim prace *Fey'a* i wsp., które poświęcone są immunoelektroforetycznej ocenie składu białkowego surowicy cieląt w pierwszym okresie życia (4, 5). Badania te potwierdzone przez *Sitarską* (12) wykazały, że u cieląt bezpośrednio po urodzeniu występuje typowy obraz defectoproteinemii (a-gammaglobulinemia), i dopiero po podaniu siary dochodzi do pojawienia się wszystkich frakcji białkowych w surowicy krwi (ryc. 6).

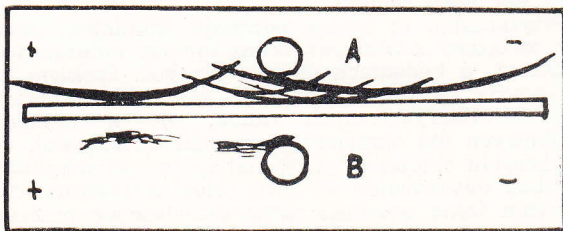
Stosując metodę immunoelektroforezy stwierdzono, że u nowo narodzonych cieląt resorbcja wielkocząsteczkowych związków przez ścianę jelitową nie ma wybiórczego charakteru, właściwego dla immunolaktoglobulin. Do 24–36 godzin po urodzeniu przez ścianę jelitową u cieląt mogą być resorbowane np. białka surowicy konia.



Ryc. 6. Immunoelektroforogram surowicy cielęcia. A — przed podaniem siary, B — po podaniu siary. Do basenika centralnego podano antyserum „anty surowica krowy”. Do baseników brzeżnych antyserum „anty siara”. W immunoelektroforogramie A brak linii precipitacyjnej dla gamma-globuliny. W immunoelektroforogramie B wyraźnie jest widoczna linia precipitacji gamma-globuliny (oznaczona strzałką).

Mimo że zjawisko agammaglobulinemii u cieląt nie jest zagadnieniem nowym, to jednak możliwości jego badania przy pomocy metody immunoelektroforezy są daleko większe, niż przy pomocy dotychczasowych metod, np. elektroforezy bibułowej.

*Nicolet* (11) stosując metodę immunoelektroforezy badał skład białek surowicznych w mleku u krów zdrowych i krów z zapaleniem wymienia. Podobne badania przeprowadzał *Wiśniowski* (13). Własne badania wykonane za pomocą omawianej metody potwierdziły spostrzeżenia wyżej wymienionych autorów, że w procesach zapalnych wymienia dochodzi do znacznego zwiększenia w mleku zawartości białek pochodzenia surowiczego (ryc. 7).



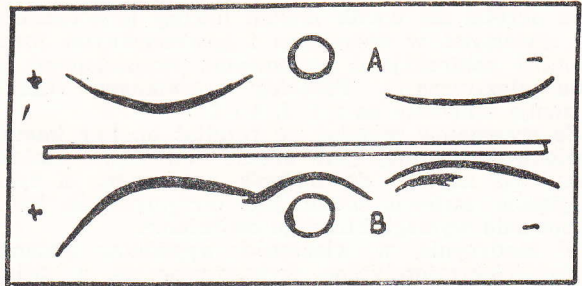
Ryc. 7. Immunoelektroforogram mleka krowiego. A — mleko od krowy z zapaleniem wymienia, B — mleko od krów bez zmian chorobowych.

Do basenika podłużnego naniesiono antyserum „anty surowica krowy”. W immunoelektroforogramie A widoczne linie precipitacyjne poszczególnych frakcji białek surowicznych.

Badania immunoelektroforetyczne mleka są typowym przykładem korzyści, jakie można osiągnąć

stosując metodę immunoelektroforezy. Ponieważ w omawianych badaniach nad mlekiem posługiwano się antyserum zawierającym przeciwciała właściwe dla białek surowicy, w ten sposób można bardzo znacznie poszerzyć zakres możliwości badań nad etiopatogenezą zapalenia wymienia u krów.

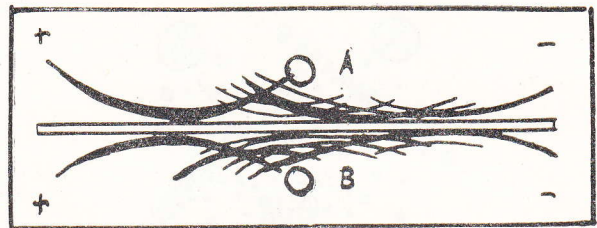
Omawiając te zagadnienia należy podkreślić, że wykorzystując dużą czułość immunoelektroforezy było możliwe przesledzenie wpływu hormonów płciowych na przenikanie białek surowicznych do mleka. W badaniach tych stwierdzono, że zawartość białek surowicznych w mleku ulega zmianom w zależności od fazy cyklu płciowego (9). Ryc. 8).



Ryc. 8. Immunoelektroforogram mleka krowiego wykonany z antyserum „anty surowica krowy”. A — mleko pobrane w dniu wystąpienia objawów rujowych. B — mleko pobrane od tej samej krowy w 10 dni po rui. W immunoelektroforogramie B widoczna jest większa ilość linii precipitacyjnych.

Stosując antyserum zawierające przeciwciała dla białek surowicy można badać nie tylko surowicę, względnie mleko, ale również inne płyny ustrojowe. Stosując tę metodę przeprowadzono badania nad składem białkowym płynu pęcherzyków Graafa i płynów z cyst pęcherzykowych. Wykazano, że skład białkowy płynu z cyst jest analogiczny do takiego samego składu białkowego, jaki występuje w płynie z wczesnych pęcherzyków Graafa (ryc. 9). (10).

Badając skład białkowy płynu pęcherzykowego metodą immunoelektroforezy stwierdzono, że w miarę wzrostu pęcherzyków, obraz immunoelektroforetyczny płynu staje się zbliżony do obrazu, jaki uzyskuje się dla białek surowicy krwi. Dotyczy to głównie strefy alfa-globulin.



Ryc. 9. Immunoelektroforogram porównawczy. A — płynu z małego pęcherzyka Graafa z jajnika krowy. B — surowicy krowy.

Widoczny jest brak linii precipitacyjnej w strefie alfa-globulinowej w immunoelektroforogramie z płynu pęcherzykowego w porównaniu z immunoelektroforogramem surowicy.

Przeprowadzone badania immunoelektroforezy śluzu szyjkowego krów będą szczegółowo omawiane w następnym pracach. Przytoczone fragmenty badań są ilustracją wykazującą, że metoda immunoelektroforezy może wnieść zupełnie nowe elementy do rozpoznania i patogenezy badanych procesów chorobowych.

Przedstawione w niniejszej pracy przykłady stanowią jedynie bardzo wąski wycinek zagadnień, które są rozwiązywane przy zastosowaniu metody immunoelektroforezy. Możliwości tej metody są daleko większe. Ponieważ badania przedstawione w następnych pracach dotyczą analizy składu białek surowicznych śluzu szyjkowego u krów, z tych względów powyższy przegląd ograniczono do analizy immuno-

elektroforetycznej białek surowicy. W powyższym przeglądzie celowo pominięto zagadnienia dotyczące analizy antygenowej tkanek. Jest to oddzielny problem, który w ostatnich czasach bardzo szybko rozwija się i rokuje duże możliwości badawcze.

#### Piśmiennictwo

1. Askanas Z.: Wiadomości Lekarskie 15, 1609, 1962.
2. Borkowski T.: Post. Bioch. 5, 299, 1959.
3. Crowle A. J.: Immunodiffusion Acad. Press N. 4, 1961.
4. Fey H.: Schweiz. Arch. Tierheilkunde 104, 1, 1962.
5. Fey H.: Schweiz. Arch. Tierheilkunde 103, 349, 1961.
6. Grabar P., Williams C. A.: Biochim. biophysica Acta 10, 193, 1953.
7. Gugler E., Muralt G., Büttler R.: Schweiz. med. Wschr. 89, 703, 1959.

8. Hitzig W. H., Stauffer E.: Schweiz. med. Wschr. 92, 1346, 1962.
9. Mazurczak J., Michalik J., Sitariska E.: Wpływ hormonów płciowych na obraz immunoelektroforetyczny białek surowiczych w mleku (praca nie publikowana).
10. Mazurczak J., Sitariska E.: Obraz immunoelektroforetyczny płynu cyst pęcherzykowych jajników krów (praca nie publikowana).
11. Nicolet J.: Milchwissenschaft. 17, 307, 1962.
12. Sitariska E.: Etiologia hipogammaglobulinemii cieląt, praca doktorska nie publikowana, 1964.
13. Wiśniowski J., Drożdżyńska M., Grajewska P.: Biuletyn Instytutu Wet. Puławy, 6, 49, 1962.
14. Wunderly C.: Advances clin. chem. 4, 208, 1961.

Adres autora: doc. dr Jerzy Mazurczak, Warszawa, ul. Grochowska 272.

LUCJAN RUDEK

PZLZ Kutno

## Wpływ witaminy E na przywrócenie popędu płciowego u kogutów

W pierwszych dniach marca 1961 r. zakład leczniczy dla zwierząt w Kutnie począł otrzymywać od właścicieli kilkunastu ferm drobiarskich doniesienia o zaniku popędu płciowego u kogutów i stwierdzeniu wysokiego odsetka jaj niezaplodnionych, sięgającego do 50%. Przeprowadzony wywiad wykazał, że żywienie kogutów odpowiadało ogólnie przyjętym normom. Mając na uwadze niesprzyjające warunki atmosferyczne ubiegłego lata (znaczne opady), jak również podawanie ptakom zbyt zleżałej karmy, która na skutek jełczenia tłuszczów pozbawiona została witaminy E, należało przyjąć, że źródłem zaburzeń popędu płciowego kogutów była awitaminoza E.

Wychodząc z takiego założenia zdecydowano się na przeprowadzenie leczenia syntetyczną witaminą E produkcji „Polfa” stosowaną w iniekcjach domięśniowych od 30 do 50 mg na jednego koguta w ciągu trzech do pięciu dni w zależności od rasy, okresu wystąpienia zaburzeń i ich natężenia w stadzie.

Ferma 1. Stan: 70 kogutów i 750 kur rasy sussex i leghorn. Kondycja pogłowia średnia. Karmienie: pszenica, owies, jęczmień, kapusta, brukiew, mieszanka D i DK, ziemniaki, maślanka z dodatkiem substancji mineralnych i witaminowych w postaci paszowitu, biotanu, formozanu i świeżego tranu. Właściciel zauważył częściową utratę popędu płciowego w dniu 8.III.1961 r. Domięśniowe zastosowanie witaminy E w iniekcji po 30 mg na jednego koguta przez 5 kolejnych dni spowodowało, że już po 3 dniach ptaki stały się żywsze, a po 5 dniach właściciel zauważył znaczną część kogutów kryjących. Jaja zwrócono przez zakład wylęgowy z powodu znacznej ilości jaj niezaplodnionych z połowy ubiegłego miesiąca. Po dwóch tygodniach od czasu przeprowadzonego leczenia jaja były w 90% zapłodnione.

Ferma 2. W stadzie znajduje się 30 kogutów i 350 kur rasy karmazyn. Właściciel — rolnik z wyższym wykształceniem, gospodarstwo posiada glebę o wysokiej kulturze i właściwie stosowanym płodozmianie. Karmienie, jak w poprzedniej fermie, z dodatkiem kolb kukurydzy. Objawy zahamowania popędu płciowego wystąpiły stosunkowo późno, bo dopiero 15.III.1961 r. Kondycja pogłowia bardzo dobra. Domięśniowa iniekcja witaminy E przez 3 kolejne dni w ilości 50 mg *pro die* na jednego koguta poprawiła im temperament. Po przeprowadzonym leczeniu wszystkie zaczęły kryć. Wskaźnik zapłodnionych jaj podniósł się do 92%.

Ferma 3. W fermie znajdują się 42 koguty i 450 kur rasy sussex. Kondycja stada dobra. Znajdujące się przy fermie gospodarstwo rolne zapewnia ptactwu rozległy i urozmaicony asortyment paszowy z

uwzględnieniem mączek mięsno-kostnych. W dniu 10.IV.1961 r. zauważono objawy zmniejszonego krycia u kogutów a po następnych 2 dniach koguty zupełnie przestały kryć. Podanie w iniekcji domięśniowej witaminy E po 30 mg na sztukę przez 5 kolejnych dni spowodowało, że część kogutów kryła już po 3 dniach a wszystkie koguty po upływie tygodnia. Ilość zapłodnionych jaj wzrasta stosownie do norm przewidzianych dla zakładu lęgowego.

Ferma 4. Stan: 75 kogutów i 850 kur rasy leghorn i zielononózka. Właściciel zajmuje się hodowlą drobiu już od kilku lat a posiadane własne gospodarstwo rolne zapewnia mu szeroki asortyment pasz. Poza tym drób otrzymuje dodatki mineralne, mleko, susz z kukurydzy, marchew, tran. Tym należy tłumaczyć znacznie późniejsze wystąpienie utraty popędu płciowego. W dniu 18.III. 1961 r. spostrzeżono osowiałość u części kogutów, jak również zahamowanie krycia. Ponieważ schorzenie to stało się głośnie wśród hodowców w powiecie, właściciel przystąpił natychmiast do leczenia i w tym przypadku trzykrotna iniekcja witaminy E w ilości 30 mg na jednego koguta domięśniowo spowodowała przywrócenie popędu płciowego.

Ferma 5. Stan: 15 kogutów i 180 kur rasy leghorn. Kondycja ptaków średnia. Właściciel nabywa pasze na rynku w różnej ilości, jak również i rozmaitej jakości. Nie zawsze uda mu się zakupić właściwy i potrzebny rodzaj paszy wysokiej jakości i dlatego w tym przypadku należało się spodziewać, że w stadzie daleko wcześniej wystąpią objawy zahamowania krycia u kogutów. Istotnie — w dniu 5.III.1961 r. już wszystkie koguty przestały kryć, a przedtem właściciel zauważył u kogutów posmutnienie i utratę temperamentu. Zwrot niezaplodnionych jaj z zakładu lęgowego spowodował konieczność szukania pomocy w zakładzie leczniczym. Domięśniowa iniekcja 30 mg na jednego koguta przez 5 kolejnych dni powoduje przywrócenie popędu płciowego kogutom dopiero po przeprowadzeniu leczenia, a nie jak to obserwowano w poprzednich fermach, gdzie poprawa następowała już w czasie podawania witaminy E. Jako rezultat zabiegu następuje podniesienie się ilości zapłodnionych jaj do przepisanej normy, jednak z pewnym opóźnieniem. W tym przypadku właściciel zdając sobie sprawę z zaistnienia niedoborów paszowych, jak i witaminowych, które mogą się odbić ujemnie na dochodowości fermy, skorzystał z porady co do powtórnego zastosowania witaminy E po tygodniowej przerwie, wynikiem czego było podniesienie ilości zapłodnionych jaj do 100%.

We wszystkich fermach przez cały okres występowania tego schorzenia podawano oprócz syntetycznej