

my aminokwasy, peptydy, białka itp. Zgodnie z badaniami własnymi (4), poziom cynku wzrasta wraz z udziałem białek w składzie ejakulatu. Średni poziom białka całkowitego w osoczu nasienia wynosi 1,9 g%. Po usunięciu wydzieliny jąder i najądrzy ze składu ejakulatu ilość białek wraz z cynkiem spada do 1,41 g%. Najwyższą zawartość białka wykazano w wydzielinie gruczołów pęcherzykowych (około 10 g%), z czym wiąże się wysokie stężenie wymienionego pierwiastka w wydzielinie tej części układu płciowego. Po usunięciu gruczołów pęcherzykowych i wydzieliny nasieniowodów koncentracja białka całkowitego spada do 0,17 g% (4).

W oparciu o otrzymane wyniki badań należy stwierdzić, że fizjologiczne i biochemiczne mechanizmy działające wewnątrz układu płciowego odgrywają bardzo ważną rolę w produkcji pełnowartościowego ejakulatu. Poziom metali ciężkich w nasieniu szczególnie cynku, związany z substancjami o wysokiej stabilności może być wykładnikiem sprawności układów kontrolujących koncentrację tych związków chemicznych.

Wnioski

1. Charakterystyczną cechą płynnej frakcji nasienia jest wysoki poziom cynku (średnio

19,995 ppm) w porównaniu z miedzią, (średnio 0,606 ppm) i ołowiem (średnio 0,661 ppm).

2. Wydzielina gruczołów pęcherzykowych i nasieniowodów knura jest głównym źródłem cynku w osoczu nasienia tych zwierząt. Znaczny wpływ na poziom opisanego pierwiastka ma wydzielina jąder i najądrzy.

3. Zawartość miedzi i ołowiu w ejakulatach knurów jest związana z wydzieliną jąder, najądrzy, gruczołów pęcherzykowych, nasieniowodów oraz prostaty i gruczołów cewki moczowej.

Piśmiennictwo

1. Bournsnel J. C., Coombs R. R. A.: J. Reprod. Fert. 11, 139, 1966.
2. Bournsnel J. C., Briggs P. A., Cole D. M.: J. Reprod. Fert. 16, 457, 1968.
3. Bournsnel J. C., Baronos S., Briggs P. A., Butler E. J.: J. Reprod. Fert. 29, 215, 1972.
4. Dubiel A.: Zeszyty Nauk. AR Wrocław Rozprawy 4, 3, 1977.
5. Dynarowicz I., Mikolajczak B.: Zeszyty Nauk. AR Wrocław, Weterynaria 33, 149, 1975.
6. Mann T.: Biochemia nasienia PWRIL, 1958.
7. McKenzie F. F., Miller J. C., Banquess L. C.: Res. Bull. Mo. Agr. Exp. Sta. 279, 1, 1938.
8. Sokołowska I. I.: Iskustwennoje osemnenije swiniej. Sielchozizdat, Moskwa 1962.
9. Westmoreland N., First N. L., Hoekstra W. G.: J. Reprod. Fert. 13, 223, 1967.

Adres autora: dr Andrzej Dubiel, Klinika Położnicza AR, Plac Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław.

ZYGMUNT PEJSAK

Zastosowanie metody biopsji pochwy w diagnostyce wczesnej ciąży u świń *)

Z Zakładu Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasieniania Instytutu Zootechniki w Balicach k/Krakowa

Intensywny wzrost produkcji trzody chlewnej, opierający się między innymi na maksymalnym wykorzystaniu zdolności produkcyjnych macior, stwarza konieczność wprowadzenia do praktyki metody rozpoznawania wczesnej ciąży. Sprawa ta jest szczególnie istotna w warunkach ferm przemysłowych, w których rozpoznawanie ciąży oparte jedynie na stwierdzeniu niepowtarzalności objawów rui, staje się absolutnie niewystarczające. Wdrożenie do praktyki metody diagnostyki ciąży pozwoli na wczesną ocenę skuteczności unasieniania, da możliwość tworzenia właściwych, złożonych tylko ze sztuk próśnych grup technologicznych. Stworzy to także możliwość eliminacji ze stada sztuk niepróśnych, co pozwoli na lepsze wykorzystanie zapasów paszowych i potencjału stanowiskowego.

Spośród znanych metod diagnostyki ciąży u świń na uwagę zasługują te, które charakteryzują się odpowiednią skutecznością, małą pra-

cochłonnością oraz prostotą wykonania, a tym samym mogą być wprowadzone do rutynowej praktyki. Wymaganiom tym wydaje się odpowiadać metoda biopsji pochwy, której przydatność we wczesnym rozpoznawaniu ciąży potwierdziło już wielu autorów (2, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 13, 15, 16, 18, 21, 22).

Pierwszy Wilson (1926) (cyt. za 15) stwierdził zależność między zmianami w strukturze nabłonka błony śluzowej pochwy a fazą cyklu płciowego. Stwierdził on, że w okresie rui nabłonek błony śluzowej pochwy złożony jest z 13—16 warstw komórek, podczas gdy w *dioestrus* składa się tylko z 4—5 warstw. Próby mające na celu praktyczne wykorzystanie tej metody podjęli w 1955 r. Ciurra i wsp. (4). Autorzy ci stwierdzili, że już od 14 dnia po skutecznym pokryciu ilość warstw komórek nabłonka błony śluzowej pochwy redukuje się do 2—3. Większość autorów (2, 4, 7, 11, 16, 20) zajmujących się tym zagadnieniem uznaje różnice w ilości warstw nabłonka błony śluzowej pochwy u sztuk próśnych i niepróśnych za za-

* Praca została wykonana w ramach problemu 132 E koodynowanego przez Instytut Zootechniki w Krakowie.

sadnicze kryterium rozpoznawcze. Jak podaje Walker (23) typowy nabłonek ciążyowy składa się z 2—3 warstw komórek ułożonych w rzędach równoległych do niepofałdowanej błony podstawowej. Nabłonek błony śluzowej u świń nieciążarnych złożony jest z 4—20 warstw komórek i jest ograniczony nierówną, pełną wybrzuszeń i nieregularnych wpochwień błoną podstawową.

W okresie wczesnej ciąży kuboidalne komórki nabłonka stają się płaskie, a intensywnie barwiące się jądra komórkowe zawierające zbitą chromatynę, wykazują tendencję do układania się swoją długą osią równolegle do powierzchni nabłonka, tworząc widoczne regularne rzędy. Ze względu na termin ustalania się takiego obrazu wszyscy autorzy sugerują, by diagnostykę ciąży przeprowadzać dopiero od 21 dnia po pokryciu. Po tym terminie zgodność wyników oceny ciąży jest najwyższa, unika się wątpliwych wyników możliwych w *dioestrus* i wyklucza z badań świnię wykazujące objawy ruł.

Girardot i wsp. (3), którzy przeprowadzili badania nad wyznaczeniem optymalnego okresu określenia ciąży tą metodą ustalili, że wycinki pobierane w następujących okresach: 18—22, 23—27, 28—32 dzień po pokryciu dawały 86,3%, 92,1%, 96,9% wyników zgodnych. Mather i wsp. (13) badali współzależność między znajomością terminów pokrycia, okresem pobierania próbek a skutecznością diagnostyki udowadniając, że najwyższa zgodność w diagnostyce ciąży jest w tej grupie zwierząt, w której podczas pobierania wycinków znane były terminy pokrycia (94,8%), podczas gdy w grupie świń o nieustalonym terminie pokrycia zgodność wynosiła tylko 74,4%. Największy procent wyników wątpliwych i niezgodnych otrzymuje się pobierając wycinki w późnym okresie międzyrujowym i w fazie lutealnej cyklu, gdy ilość warstw nabłonka wynosi 3—5 (2, 6, 11, 13, 18, 21). Jednakże jak podaje Jonderko (10) warstwa 2—3 komórek nabłonka jest znacznie cieńsza w ciąży aniżeli w *dioestrus* i wysokość jej wynosi 18—20 mikronów. Falszywie dodatnie wyniki otrzymać możemy w przypadku przedłużonej fazy lutealnej lub też z powodu cyst jajnikowych (15). Boyd (1) oraz Diehl (7) w swoich pracach wykazują, jak istotne dla prawidłowej oceny diagnostyki jest miejsce pobierania wycinków, które znajduje się

w górnej części sklepienia pochwy, w odległości około 30 cm od sromu u macior oraz 15 cm od sromu u loszek. Morton i wsp. (15) zwrócili szczególną uwagę na znaczenie podziałów mitotycznych komórek warstwy nabłonkowej. Zauważyli oni, że między 18—20 dniem ciąży następuje bardzo wyraźne zwolnienie podziałów mitotycznych komórek, co można już uznać za symptom ciąży.

Coraz częściej przy diagnostyce ciąży metodą biopsji pochwy stosuje się mrożeniową technikę obróbki skrawków histologicznych (2, 7, 9, 13, 18, 23). Mimo, że szczegóły komórkowe w obrazie mikroskopowym tak otrzymanych preparatów są mniej wyraźne niż w preparatach otrzymanych w drodze stosowania techniki parafinowej, to jednak zgodność wyników diagnostyki ciąży przy zastosowaniu tej techniki zbliżona jest do zgodności otrzymywanej z zastosowaniem techniki parafinowej obróbki skrawków. Busch (2) stosując metodę mrożeniową obróbki skrawków otrzymał na dużym materiale w warunkach hodowli wielkostadnej 100% wyników zgodnych przy braku ciąży, oraz 94,5% wyników zgodnych u świń ciężarnych.

Materiał i metody

Materiał doświadczalny stanowiło 426 loszek i macior rasy wbp i pbz utrzymywanych na stanowiskach wiazanych w budynku krycia i ciąży. Wycinki pobierano od świń o znanych terminach inseminacji, zawsze powyżej 21 dni od wykonania tego zabiegu. Do pobierania wycinków użyto aparatu skonstruowanego wg opisu Leidla i Biegerta (12), który pozwalał jednej osobie przeprowadzić biopsję pochwy. Przyrząd ten składa się z dwu rur ściśle przylegających do siebie, wykonanych z nierdzewnej niklowanej stali o wymiarach 390 mm długości rura wewnętrzna i 335 mm rura zewnętrzna. W odległości 2 cm od przedniego końca znajdują się w obydwu rurkach wycięte prostokątne okienko do których zostaje zassana śluzówka pochwy przez umieszczoną w tylnym odcinku wewnętrznej rurki gruszkę gumową. Po wykonaniu skrętu o około 90° zewnętrzną rurką, której jedna z krawędzi wyciętego okienka jest wyostrzona, dokonuje się odcięcia zassanej śluzówki, uzyskując w ten sposób próbkę wielkości małego ziarna grochu.

Ze względu na to, że pobierania dokonywano u świń będących na uwięzi nie istniała potrzeba dodatkowego ujarzmiania zwierząt. Po oczyszczeniu sromu i rozwarciu palcami lewej ręki warg sromowych wprowadzano do pochwy przyrząd zdezynfekowany uprzednio 2% roztworem Polleny JK. Wycinki pobierano z górnej części sklepienia pochwy (*fornix vaginae*) u loszek w odległości 15 cm, a u macior w odległości 30—35 cm od sromu. Właściwie pobrane

Tab. 1. Diagnostyka ciąży za pomocą biopsji pochwy

Okres próśności, w którym przeprowadzono badanie	Ilość sztuk przebadanych	Ilość sztuk ze stwierdzoną ciążą	Ilość sztuk oproszonych	% zgodności	Ilość sztuk u których nie stwierdzono ciąży	Ilość sztuk nieoproszonych	% zgodności
22—30 dni	426	288	270	93,8	105	97	92,4

wycinki miały wielkość nieco mniejszą od ziarna grochu. Sporadycznie występujące krwawienie było niewielkie i szybko ustępowało. W ciągu godziny biopsję przeprowadzano u około 40 świń. Pobrane wycinki utrwalano 24 godziny w płynie Bouina o składzie 15 ml nasyconego roztworu kwasu pikrynowego, 5 ml zobojętnionej formaliny, 1 ml lodowatego kwasu octowego.

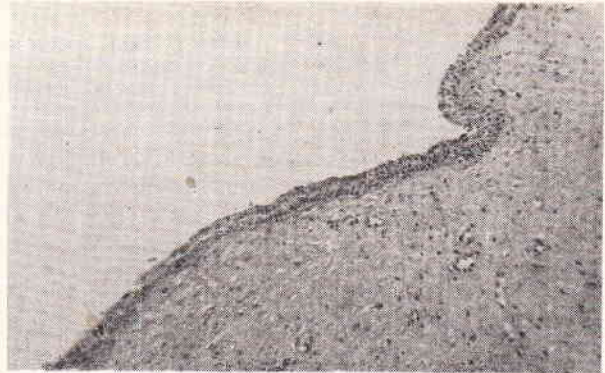
Wygodnymi w użyciu okazały się fiołki po antybiotykach, do których wkładano skrawki i zalewano płynem. Płyn Bouina przygotowywano przed każdym użyciem. Z utrwalonych preparatów sporządzano skrawki o grubości 6–10 mikronów, które nanoszono następnie na pokryte lepikiem szkiełka podstawowe. Tak przygotowane preparaty wkładano do cieplarki o temperaturze 37°C, gdzie suszono je do dnia następnego, po czym barwiono hematoksyliną i eozyną. Zabarwione preparaty zatapiano w balsamie kanadyjskim i oceniano pod mikroskopem przy powiększeniu 150-krotnym. W ciągu czterodniowego cyklu pracy jedna osoba przygotowywała i oceniała średnio 70 preparatów. Wszystkie dodatnie wyniki diagnostyki sprawdzano przeżyciowo. Zgodność ujemnych wyników diagnostyki oceniono u 25 świń poubojowo, u pozostałych zaś przyżyciowo.

Wyniki i omówienie

Otrzymane wyniki były w 93,8% zgodne w przypadku próśności i w 92,4% wykluczały istnienie ciąży u zwierząt niepróśnych. Na podanych ocenie 426 preparatów 17 nie można było odczytać. Było to między innymi wynikiem nieprawidłowego cięcia mikrotomem skrawków i uwidocznilo konieczność zwracania szczególnej uwagi na płaszczyznę cięcia preparatów. Musi ona przebiegać prostopadle przez wszystkie warstwy błony śluzowej. W 16 preparatach wynik badania histologicznego trzeba było uznać za wątpliwy; były to przypadki, w których 4–6 warstw komórek wskazywało na brak ciąży, natomiast struktura elementów komórkowych i regularna niepofałdowana błona podstawowa wskazywała na ciążę. Tak wyglądające preparaty określano jako wątpliwe. W sumie więc 33 preparaty pozostały nie oznaczone. Wydaje się, że przy zwróceniu uwagi na prawidłowe cięcie skrawków można do minimum obniżyć ilość preparatów trudnych do oceny.

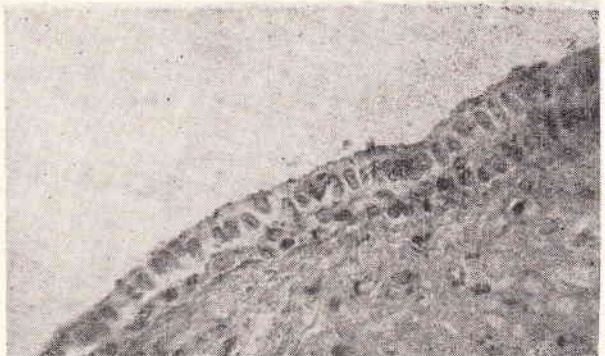
Trudno natomiast uniknąć oceny wątpliwej, wynikającej z nietypowego obrazu mikroskopowego nabłonka błony śluzowej pochwy, którego powodem mogą być stany zapalne błony śluzowej pochwy, cysty jajnikowe lub przedłużona faza lutealna (16).

W przeprowadzonym doświadczeniu wyniki wątpliwe stanowiły 3,7% wszystkich ocen. Otrzymana zgodność wyników jest średnio nieco niższa od zgodności otrzymanej przez autorów większości publikowanych prac. Do przyczyn tego stanu rzeczy zaliczyć należy pewne niedoskonałości mogące wystąpić w pierwszym okresie w zakresie techniki pobierania wycinków oraz przy obróbce histologicznej preparatów. Wydaje się także, że występowanie śmierci zarodkowej oraz ronień jest częstsze w warunkach ferm przemysłowych, gdzie ilość i natężenie różnego rodzaju stresów niekorzyst-



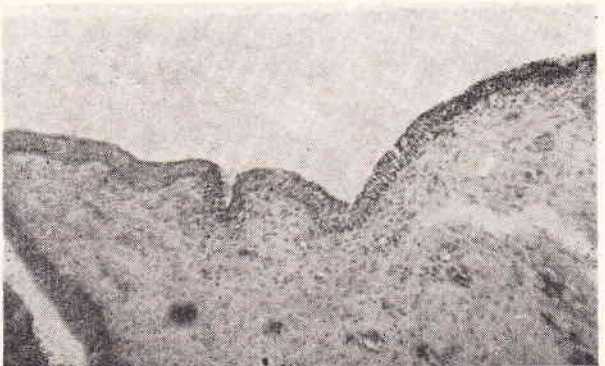
Ryc. 1. Obraz histologiczny nabłonka błony śluzowej pochwy u świni próśnej. Pow. 150 ×

Fot. dr D. Plewińska-Wierzbowska



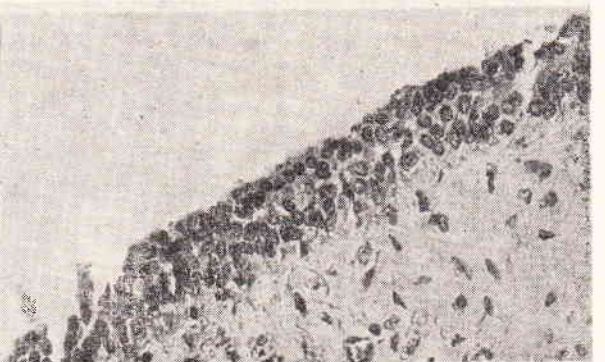
Ryc. 2. Obraz histologiczny nabłonka błony śluzowej pochwy u świni próśnej. Pow. 500 ×

Fot. dr D. Plewińska-Wierzbowska



Ryc. 3. Obraz histologiczny nabłonka błony śluzowej pochwy u świni niepróśnej. Pow. 150 ×

Fot. dr D. Plewińska-Wierzbowska



Ryc. 4. Obraz histologiczny nabłonka błony śluzowej pochwy u świni niepróśnej. Pow. 500 ×

Fot. dr D. Plewińska-Wierzbowska

tnie wpływających na organizm ciężarnej świni, a związanych z przegrupowaniami, przepędami i wiazaniem jest większe aniżeli w hodowli drobnotowarowej (14), co w konsekwencji może mieć wpływ na procent zgodności w zakresie wyników dodatnich. W badaniach przeprowadzonych w warunkach doświadczalnych i na małym materiale uzyskiwano najczęściej lepsze rezultaty (10, 15, 22) niż podczas badań przeprowadzonych w warunkach hodowli wielkotowarowej na dużym materiale (7, 9, 11, 16). Na uwagę zasługuje fakt, że dwie loszki, u których stwierdzono nabłonek złożony z 5 warstw komórek i uznano za nieprośne, oprosiły się i miały po 2 prosięta. Skłania to do stwierdzenia, że ilość płodów i związany z tym poziom hormonów ma pewien wpływ na strukturę nabłonka błony śluzowej pochwy.

Wczesna diagnostyka ciąży u świń za pomocą biopsji pochwy dokonywana w warunkach fermy przemysłowej potwierdziła przydatność tej metody i możliwość jej stosowania w oparciu o własne laboratorium histologiczne. Stosowanie tej metody znajduje uzasadnienie ekonomiczne w postaci oszczędności paszy oraz optymalnego wykorzystania stanowisk poprzez wczesne usuwanie z fermy świń nieprośnych. W sposób zasadniczy może wpływać na sprawne organizacyjnie tworzenie grup technologicznych złożonych wyłącznie z loch prośnych. Zastosowanie mikrotomu mrożeniowego uprościłoby otrzymywanie gotowych preparatów, a tym samym stworzyłoby możliwość szerszego stosowania tej metody diagnostyki ciąży.

Wnioski

1. Zgodność wyników w przypadkach stwierdzenia ciąży wynosiła 93,8%, a u loch które rozpoznano jako nieprośne 92,4%.
2. Na podstawie przeprowadzonego badania właściwa kwalifikacja loch była możliwa już między 22—30 dniem po pokryciu względnie inseminacji.
3. Bardzo istotny wpływ na wynik stosowania tej metody ma właściwie prowadzona dokumentacja hodowlana oraz znakowanie świń.

Piśmiennictwo

1. Boyd H., McLaren R. D.: Rep. VI Congr. Reprod. Insem. Artif. Paris 1, 401, 1968.
2. Busch W.: Mh. Vet. Med. 18, 813, 1963.
3. Busch W.: Mh. Vet. Med. 18, 904, 1963.
4. Ciurrea U., Neuman F., Darian E., Patea Z.: Baza Timisoara studii si cercetari scintifice. Anul. II. Academia R. P. R. 33, 113, 1955.
5. Cerne F.: Vet. Glasn. 31, 549, 1964.
6. Done J. T., Heard T. W.: Vet. Rec. 82, 64, 1967.
7. Diehl J. R., Day B. N.: J. Anim. Sci. 37, 114, 1973.
8. Girardot J., Bosc M. J., Bariteau F.: Annales de Zootechnie 21, 596, 1972.
9. Hammingsen B.: Arsberetn. Inst. Sterilitetsforsk. 1969. A.B.A. 38, poz. 1620, 1970.
10. Jonderko P.: Post. Nauk. rol. 153, 83, 1974.
11. Kiupel H., Haring E., Rommel P., Rist D.: Mh. Vet. Med. 23, 901, 1974.
12. Liedl W., Biegert W.: Zuchthyg 2, 30, 1967.
13. Mather E. C., Diehl B. S., Tumbleson M.: J. Am. vet. med. Ass. 157, 1522, 1974.

14. Miljkovic S., Milodavljovic N., Serkovic N., Puhas J.: Rep. VII Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Munich. 1, 242, 1972.
15. Morton D. S., Rankin J. E. F.: Vet. Rec. 84, 658, 1969.
16. O Reilly J. J.: Ir. vet. J. 21, 234, 1967.
17. Rommel P.: Mh. Vet. Med. 22, 848, 1973.
18. Rommel P., Huhn U., Kahlet G.: Mh. Vet. Med. 28, 458, 1973.
19. Kover H. P., Smidt D.: Tierzuchter 3, 108, 1974.
20. Veznik Z.: Rana diagnostika gravidity prasnic. Vyzkumny Ustav veterinarniho lekarstvi. Brno 1973.
21. Veznik Z.: Docum. Vet. Brno 7, 223, 1958.
22. Walker D.: Vet. Rec. 81, 648, 1967.
23. Walker D.: Vet. Rec. 90, 139, 1972.

Adres autora: lek. wet. Zygmunt Pejsak, Ferma Tuczcu Przemysłowego, 59-521 Rokitki.

Пэйсак З. — Применение биопсии влагалища в диагностике ранней беременности у свиней.

Исследования провели на 426 холостых и супросных свиноматках в условиях промышленного свиноводства. Полученные результаты совпадали с действительностью у супоросных свиной в 93,8%, а у холостых в 92,4%. Сомнительные результаты составляли 3,7%. Проведенные исследования позволили разделить свиноматки на супоросные и холостые уже между 22 а 30 днем после случки или осеменения.

Pejsak Z. — The use of vaginal biopsy for early determination of pregnancy in the sow.

The examinations were carried out on 426 sows and gilts in an industrial farm. The findings were in accordance in 93.8 per cent in case of pregnancy and in 92.4 per cent excluded the presence of pregnancy in non-pregnant animals. Doubful results were in 3.7 per cent. On the basis of the performed examinations it was possible to divide the inseminated pigs into pregnant and non-pregnant as early as between 22—30 day after covering or insemination.

ELLIS R. P., VORHIES M. W.: Wpływ paszy wzbogaconej w witaminę E na odpowiedź immunologiczną świń na bakterynę *Escherichia coli*. (Effect of supplemental dietary vitamin E on the serologic response of swine to an *Escherichia coli* bacterin). J. Amer. vet. med. Ass. 168, 231—232, 1976 (3).

Wcześniejsze badania przeprowadzone na myszach i kurczętach wykazały, że duże stężenie witaminy E w pokarmie wywierają działanie stymulujące na odpowiedź immunologiczną. Wpływ tej witaminy na odpowiedź immunologiczną u prosiąt przebadano na 30 prosiątach w wieku 6—8 tygodni. Grupa 1 (10 sztuk zwierząt) była karmiona paszą stosowaną powszechnie w żywieniu prosiąt, zaś grupa 2 otrzymywała paszę wzbogaconą w witaminę E w ilości 20 000 jm/tona, a grupa 3 paszę wzbogaconą w 100 000 jm witaminy E/tona. Prosięta zaszczepiono bakteryną *Escherichia coli* dnia 0 i 35 od chwili podjęcia obserwacji. Średnie grupowe miano przeciwciał oznaczono 7 dnia przed szczepieniem oraz po 7, 14, 21, 35, 42, 49 i 56 dniach po szczepieniu. U prosiąt otrzymujących karmę zawierającą 100 000 jm witaminy E/tona miano aglutynin dla *E. coli* było średnio 2—3 krotnie wyższe w porównaniu do mian w grupie kontrolnej. Miano to narastało stopniowo między 7—42 dniem po szczepieniu, a następnie wykazywało tendencje spadkowe. Natomiast u prosiąt żywionych karmą z dodatkiem 20 000 jm wit. E/tona paszy, średnio grupowe miano aglutynin dla *E. coli* wahało się między mianem grupy kontrolnej i grupy, która otrzymywała pokarm z dodatkiem 100 000 jm wit. E/tona. Dodatek witaminy E do karmy może więc wpływać stymulująco na odpowiedź immunologiczną świń na powszechnie występujące antygeny bakteryjne.

G.