

HENRYK BALBIERZ, MARIA NIKOŁAJCZUK, JAN ZIELIŃSKI

Prosty sposób określenia zawartości immunolaktoglobulin w siarze krów

Katedra Fizjopatologii Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Norwida 29, 50-375 Wrocław

Terenowa służba weterynaryjna docenia w pełni korzyści, jakie płyną ze stosowania badań laboratoryjnych, zniechęca się jednak i często rezygnuje z ich dobrodziejstwa, gdy badania te są zbyt skomplikowane, wymagają zaplecza aparaturowego, czy trudno dostępnych odczynników. Można domyślać się, że obserwowane ostatnio nasilenie poszukiwań prostych metod badawczych — o czym informuje fachowa prasa — jest wychodzeniem naprzeciw życzeniom szerokiego kręgu odbiorców. Proste metody diagnostyczne, w których wyniki uzyskiwane są bezpośrednio, w obrębie własnej placówki bądź nawet przy pacjencie, chociażby były mniej precyzyjne, przynoszą niepodważalne korzyści, które rekompensują z nadwyżką mniejszą ich dokładność. Szczególnie angielskojęzyczne piśmiennictwo weterynaryjne przynosi sygnałne informacje o nowych, bądź zaadaptowanych dla potrzeb terenowych, metodach badań laboratoryjnych (4, 6, 8, 9, 10).

Przed kilku laty przybliżyliśmy krajowej służbie weterynaryjnej na łamach *Medycyny Wet.* (7) i *Pol. Arch. Wet.* (1) dwie proste metody: SSTT — do oznaczania immunoglobulin w surowicy krwi i HP — do wykrywania patologicznego białka, szczegółowo opisane także w dysertacji doktorskiej (5). Obecnie przedstawiamy prosty sposób określenia zawartości immunolaktoglobulin w siarze. Na temat roli siary w okresie neonatalnym cieląt ogłoszono już setki prac, można więc ograniczyć się do przypomnienia, że prócz wszystkich innych okoliczności warunkujących wykorzystanie przez cielę podawanej siary nie można nie doceniać jej własnych walorów immunologicznych. Fleenor i Stott (3) zauważyli, że zawartość immunolaktoglobulin w siarze znajduje odbicie w jej ciężarze właściwym. To stwierdzenie, zweryfikowane statystycznie, pozwoliło im skonstruować kolostrometr, zaproponować formułę szacunkowej oceny wartości immunologicznej siary podawanej cielęciu (3).

Prostota opisanej metody, pozwalająca lekarzowi weterynaryjnemu szacunkowo określić zawartość immunolaktoglobulin już w oborze i na tej podstawie wydać stosowne decyzje, zachęciła nas do jej sprawdzenia w warunkach krajowych. Postanowiono zestawić wyniki badań areometrycznych siary z rezultatami uzyskanymi po rozdziale elektroforetycznym serwatki siary. Zakładano, że ta ostatnia metoda, powszechnie uznawana w badaniach klinicznych, będzie dobrze weryfikowała wyniki

przedstawione przez Fleenora i Stotta (3), a także może być uznana za metodę odniesienia, pozostającą w zasięgu placówek weterynaryjnych, gdyby konieczność tego wymagała.

Material i metody

Badania przeprowadzono na 72 próbach siary, w tym 40 próbach pobranych bezpośrednio po zakończonym porodzie, kilku próbach od tych samych krów pobieranych w trzech kolejnych dniach po porodzie (łącznie 24) oraz kilku próbach mleka oborowego. W oborze za pomocą areometru z odpowiednią skalą oznaczono gęstość względną (dawniej ciężar właściwy) siary z dokładności do 0,001. Próbkę tej samej siary zachowywano do dalszych badań. Po zadziałaniu podpuszczką (0,1 ml na 5 ml siary) odwirowywano serwatkę, w której oznaczano białko całkowite metodą biuretową i frakcje białka po elektroforetycznym rozdziale na bibule w standardowych warunkach. Ilość gammaglobulin wyrażano w wartościach bezwzględnych, to jest w g na 100 ml. Wyniki z oznaczenia gęstości względnej siary i zawartości gammaglobulin poddano analizie statystycznej metodą regresji.

Wyniki i omówienie

Weryfikacja wyników uzyskanych w przebiegu badań, dokonana metodą regresji, potwierdziła sygnalizowane spostrzeżenia o istnieniu ścisłej zależności pomiędzy gęstością względną siary i zawartością w niej immunolaktoglobulin.

Tab. 1. Zestawienie zależności gęstości względnej siary i stężenia immunolaktoglobulin w niej zawartych

Gęstość względna	Immuno- laktoglobuliny g w 100 ml	Gęstość względna	Immuno- laktoglobuliny g w 100 ml
1,030	0,08	1,056	7,72
1,031	0,38	1,057	8,02
1,032	0,67	1,058	8,31
1,033	0,96	1,059	8,60
1,034	1,26	1,060	8,90
1,035	1,55	1,061	9,19
1,036	1,85	1,062	9,49
1,037	2,14	1,063	9,78
1,038	2,43	1,064	10,07
1,039	2,73	1,065	10,37
1,040	3,02	1,066	10,66
1,041	3,31	1,067	10,96
1,042	3,61	1,068	11,25
1,043	3,90	1,069	11,54
1,044	4,20	1,070	11,84
1,045	4,49	1,071	12,13
1,046	4,78	1,072	12,42
1,047	5,08	1,073	12,72
1,048	5,37	1,074	13,01
1,049	5,67	1,075	13,31
1,050	5,96	1,076	13,60
1,051	6,25	1,077	13,90
1,052	6,55	1,078	14,19
1,053	6,84	1,079	14,48
1,054	7,13	1,080	14,78
1,055	7,43		

Przyjmując wzór $y=293,868 \cdot x-302,602$ uzyskano współczynnik korelacji liniowej $r=0,90$ istotny dla $\alpha=0,01$. Prosta obrazująca rozkład czynników przyjmuje położenie, które dobrze oddaje charakterystykę zjawiska. Na podstawie wyliczeń z podanego wzoru uszeregowano wartości gęstości względnej i stężenia immunolaktoglobulin w tab. 1. Zestawiono również średnie wartości badanych parametrów w kolejnych pobraniach od tych samych krów (tab. 2).

Tab. 2. Średnie (i skrajne) wartości pomiarów z kolejnych pobrań siary od tych samych krów ($n=8$)

Bezpośrednio po porodzie		Po 24 godz.		Po 48 godz.	
gęstość względna	gamma-globuliny (g w 100 ml)	gęstość względna	gamma-globuliny (g w 100 ml)	gęstość względna	gamma-globuliny (g w 100 ml)
1,062	8,44	1,037	1,60	1,033	0,71
1,053 - 1,068	6,63 - 10,61	1,031 - 1,048	0,89 - 2,60	1,029 - 1,044	0,58 - 0,92

Porównanie wyników tych samych prób siary, uzyskanych dwiema różnymi metodami, z których jedna jest powszechnie uznawana i stosowana w badaniach klinicznych, a druga bardzo uproszczona i aktualnie weryfikowana rysuje interesujący obraz.

Tabela sporządzona przez Fleenora i Stotta (3) zawierająca zestawione wartości areometryczne z podaniem granic stref odpowiadających skali ocen wartości immunologicznych siary może służyć jako tło dla dokonywanych porównań. Dla pełnej jasności obrazu tych porównań należy podkreślić, że Fleenor i Stott podali stężenie immunolaktoglobulin w jednostkach masy (mg w 1 g siary). Wyniki badań własnych przedstawiono w jednostkach masy i objętości — g w 100 ml serwatki siary. Ten fakt może w jakimś stopniu różnić omawiane wyniki.

Fleenor i Stott po skonstruowaniu tabeli, w której zamieścili dane pozwalające na odczytanie zawartości immunolaktoglobulin bezpośrednio z oznaczenia gęstości względnej siary, dokonali także oceny jej immunologicznej wartości. Przyjęli trzy zakresy, trzy stopnie oceny: siara zła — to taka, której gęstość względna wynosiła mniej niż 1,036, co w sporządzonej przez nich tabeli odpowiada zawartości immunolaktoglobulin mniejszej niż 2,435 g w 100 g. Przedział skali upoważniający do określenia siary mianem dobra rozciąga się od 1,037 do 1,046 czyli do 4,98 g Ig w 100 g. Wreszcie, gdy masa właściwa wynosi więcej niż 1,047, to siarę tę ocenia się jako doskonałą.

Zestawienie rezultatów uzyskanych w badaniach własnych z wynikami Fleenora i Stotta potwierdza, że granica uznania siary za złą ustalona przez tych autorów (pod względem zawartości immunolaktoglobulin) jest dobrze wyważona i właściwie usytuowana. Pozwala wykryć możliwość pomyłki lub świadomego podawania mleka w miejsce siary. Jednak trójstopniowa skala ocen jakości siary zaproponowana przez tych autorów nie pozwala precyzyjnie

rozgraniczyć walorów biologicznych i kwalifikować siary do właściwych przedziałów ocen. Powszechnie wiadomo, że w procesach biologicznych wytyczenie jakichkolwiek granic jest swego rodzaju łamaniem rozumienia ciągłości przemian, ich dynamicznego trwania i zdolności przystosowawczych do utrzymania homeostazy ustroju, ale względy zmierzające do segregowania zjawisk i ich porządkowania wymagają niekiedy takiej manipulacji.

Naszą propozycją byłoby wprowadzenie czte-

rostopniowej skali, z następującym wytyczeniem granic: siara zła — taką ocenę należy stosować, gdy zawartość immunolaktoglobulin w siarze jest niższa niż 4,0 g w 100 ml, co odpowiadałoby gęstości względnej niższej od 1,044. Siara, w której zawartość immunolaktoglobulin mieściłaby się w granicach od 4,0 do 7,0 g w 100 ml, a gęstość względna odpowiednio od 1,044 do 1,056 uznawana byłaby za siarę mierną. Stężenie immunolaktoglobulin w granicach od 8,0 do 12,0 g w 100 ml (gęstość względna 1,057 do 1,070) dawałoby ocenę dobrą, a powyżej 12,0 g w 100 ml (gęstość względna 1,071) ocenę bardzo dobrą.

Skład siary, szczególnie poziom immunolaktoglobulin zmienia się bardzo szybko, gdy nowo narodzone cielę ma swobodny dostęp do matki i może ssać. Dlatego, chociaż na małej grupie — 7 krów postanowiono rejestrować dynamikę zmian ilościowych gęstości względnej i ilości gammaglobulin w próbkach siary pobieranej co 24 h od tych samych krów (tab. 2). Propozycja nasza nie wynika z egocentryzmu, lecz z troski o właściwe klasyfikowanie materiału biologicznego. Niefrasobliwość przy wykonywaniu wszelkich poleceń, także zaleceń lekarsko-weterynaryjnych, wymaga prewencyjnego przewidywania skutków, jakie z takiego liberalnego oceniania mogłyby wynikać i jakie mogłyby powodować szkody. Dlatego ocena dobra może być przypisana tylko takiej siarze, której walory immunologiczne są potencjalnie zdolne zapewnić nowo narodzonemu cielęciu ochronę immunologiczną i możliwość przeżycia także w standardowych warunkach chowu.

W tym poglądzie nie jesteśmy osamotnieni. Badacze francuscy z INRA w Theix we Francji (2) również skłaniają się do stawiania wyższych wymagań przy ocenie immunolaktoglobulin; piszą oni: „Za optymalny poziom gammaglobulin w serwatce siary bydlęcej, zapewniający dobre przeżywanie cieląt, uznać należy poziom około 12 g w 100 ml. Poziomy poniżej

10 g w 100 ml mogą okazać się niewystarczającą”.

Nie wolno zapominać, że stwierdzenie wysokiego nawet poziomu immunoglobulin w surowicy krwi cielęcia, czy też immunolaktoglobulin w siarze jest tylko szansą, a nie pewnikiem, że odchow będzie przebiegał bez zakłóceń. Na utrzymanie zdrowia wpływa bowiem wiele czynników, wśród nich jest także немало tych, które zależą wyłącznie od człowieka, któremu powierzono pieczę nad noworodkiem.

Upowszechnienie prostej metody określania zawartości Ig w siarze, opracowanej przez Fleenora i Stotta, umożliwi terenowej służbie weterynaryjnej prawidłową ocenę jakości siary na miejscu przy krowie i pozwoli podejmować stosowne decyzje*).

* Aby ułatwić kolegom w terenie posługiwanie się opisaną metodą podajemy nazwę i adresy firmy produkującej areometry (laktometry): Spółdzielnia Pracy „Areometr”, Warszawa — Młedzeszyn.

Piśmiennictwo

1. *Balbierz H., Nowacki W., Russ T.*: Pol. Arch. wet. 20, 87, 1977.
2. *Dardillat J., Trillat G., Larvor P.*: Ann. Rech. Vet. 9, 375, 1978.
3. *Fleener W. A., Stott G. H.*: J. Dairy Sci. 63, 973, 1980.
4. *Patterson D. S. P.*: Vet. Rec. 80, 260, 1967.
5. *Russ T.*: Próba zastosowania testów SSTT (Sodium Sulphit Turbidimetric Test) i HRP (Haemoglobin Reactive Protein) w wykrywaniu stanów chorobowych u cieląt. Praca dokt. Wrocław 1981.
6. *Sandholm M.*: Res. vet. Sci. 17, 32, 1974.
7. *Sobiech E., Russ T., Sawicki T.*: Medycyna Wet. 31, 269, 1975.

8. *Spooner R. L., Miller J. K.*: Vet. Rec. 89, 2, 1971.
9. *Stone S. S., Gitter M.*: Br. vet. J. 125, 68, 1969.
10. *Williams M. R., Spooner R. I., Thomas L. H.*: Vet. Rec. 96, 82, 1975.

Adres autora: prof. dr Henryk Balbierz, ul. Stanki 7, 52-423 Wrocław.

Бальбеж Г., Николаичук М., Зелинский Я. — Простой способ определения содержания иммунолактоглобулинов в молозиве коров

Авторы, опираясь на наблюдения Флинора и Стотта, подсчитали методом регрессии линейную зависимость между относительной густотой молозива и концентрацией иммунолактоглобулинов в сыроворотке молозива. Они предложили также 4-балльную иммунологическую оценку молозива. Они, однако, оговариваются, что подтверждение высокого уровня иммунолактоглобулинов в молозиве является только шансом, а не уверенностью, что выращивание теленка, кормленного таким молозивом, будет протекать без помех.

Balbierz H., Nikolaiczuk M., Zieliński J. — A simple method of the determination of the content of immunolactoglobulins in colostrum of cows

Taking into consideration the observations of Fleener and Stott the authors have calculated by the use of regression method a linear relationship between relative density of colostrum and a concentration of immunolactoglobulins in the colostrum whey. They also have proposed the four step immunological appraisal of colostrum, stipulating that the determination of a high level of colostrum immunolactoglobulins points only on a chance but not on axiom that a course of rearing of calves fed this colostrum will be normal.

JANUSZ DARZYCKI, ZBIGNIEW JAN TYSZKA, WITOLD SKOLASIŃSKI

Próba wyznaczenia granicy dla fizjologicznej zawartości elementów komórkowych w mleku owczym

Institut Biologicznych Podstaw Hodowli Zwierząt, Wydział Zootechniczny SGGW-AR, ul. Przejazd 4, 05-840 Brwinów

Problem zapaleń wymion u owiec jest stosunkowo mało zbadany. Kliniczna forma *mastitis* jest dla owiec niebezpieczna, a w skrajnych przypadkach może doprowadzić do amputacji czy odpadnięcia wymienia, lub nawet do śmierci maciorki. Unieczynnienie jednego płatu wymienia wiąże się na ogół z eliminacją zwierzęcia z hodowli. Zasadniczą sprawą staje się zatem wykrycie początkowego stadium choroby.

Do diagnozowania stanu zdrowotnego wymienia stosuje się wiele metod. Większość z nich polega na określaniu zawartości elementów komórkowych w mleku i oznaczeniu występującej w nim flory bakteryjnej. Dotychczas nie jest w pełni określona granica fizjologicznej zawartości komórek somatycznych w mleku owczym. Przyjęta przez Bonczar i wsp. (1) oraz Travnička (5) norma wynosi 500 tys. w 1 ml mleka owczego. Tyszka i wsp. (6) wypracowali robocze normy zawartości elementów komórkowych w mleku dla różnych ras owiec.

Przyjęli dla owiec rasy merynos polski 400 tys./1 ml mleka, a dla owiec rasy fińskiej i krzyżówek merynos polski x owca fińska — 600 tys./1 ml mleka. Proponowana przez Fileva (2) granica do 100 tys. komórek somatycznych w 1 ml mleka uważana jest przez Travnička (5) oraz Ojala (4) za zbyt ostrą.

Celem pracy było określenie fizjologicznej zawartości elementów komórkowych w mleku owczym jako metody szybkiego diagnozowania stanu zdrowotnego wymion owiec.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło mleko pobrane od owiec rasy merynos polski, owiec długowłnistych odmiany żeleźnińskiej oraz polskich owiec górskich pochodzących z zootechnicznych zakładów i stacji doświadczalnych. Próby mleka od owiec rasy merynos polski i długowłnistych pobierano 3 razy w ciągu laktacji (na początku, w środku i przy końcu laktacji). W przypadku owiec górskich próby mleka były pobierane sześciokrotnie w czasie laktacji tzn. 3 razy w trakcie odchowu jagniąt tak, jak u wym. raz oraz 3