

ZYGMUNT WRONA, JAN KRZYŻANOWSKI

Wpływ Ivomecu na wybrane wskaźniki jakości nasienia knurów i wyniki unasieniania loch

Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Summary

The influence of Ivomec on some indices of the boar semen: results of sow insemination

The investigations concerned the influence of ivermectin on the biological value of the semen of boars. The quality of the semen was evaluated on the basis of a preliminary estimation of spermatozoa concentration in ejaculates, the percentage of spermatozoa mortality and the morphological picture of spermatozoa. The aim of the study was also to estimate a fecundating value of the semen by determining the percentage of sows which repeated oestrus after 21 days from insemination with the semen of the experimental boars. A decrease in spermatozoa survival within two weeks after the administration of ivermectin was found.

Badania dotyczące skuteczności działania większości leków obejmują z reguły ocenę kliniczną, efektywność ich działania na określone narządy ocenianą badaniami laboratoryjnymi lub skuteczność eliminacji określonych drobnoustrojów czy pasożytów. Nieliczne są natomiast dane dotyczące wpływu leków na funkcje rozrodcze zwierząt u których są stosowane. Badania takie wydają się być szczególnie istotne w przypadku stosowania chemioterapeutyków u samców zwierząt hodowlanych. Wynika to z szerokiego stosowania inseminacji, a ostatnio również biotransferu zapłodnionych komórek jajowych, jako podstawowych metod w rozrodzie zwierząt. Wymienione metody biotechniczne ograniczają do minimum liczbę reproduktorów uczestniczących w rozrodzie, a wartość biologiczna pozyskiwanego od nich nasienia decyduje o efektywności tych metod.

Jądra i najądrza są bardzo wrażliwymi organami na toksyczne oddziaływanie czynników zarówno egzo- jak i endogen-nych (8, 9, 15, 16, 17). Zaburzenia procesu spermatogenezy i spermiogenezy nawet w krótkim czasie, powodują przejściowy spadek wartości zapładniającej nasienia (9, 16, 17) i mogą być przyczyną jego obniżonej płodności (9). Dlatego też istotnym wydaje się ocena preparatów, zwłaszcza masowo stosowanych w profilaktyce i terapii dużych grup zwierząt (chlewnie, tuczarnie, obory bydła mlecznego, Stacje Hodowli i Unasieniania Zwierząt) pod kątem ich wpływu na płodność samców i samic.

Jednym z takich, powszechnie stosowanych w Polsce chemioterapeutyków jest ivermectyna, skuteczna przeciw robakom obłym i ektopasożytom u świń, bydła, owiec, koni oraz u zwierząt mięsożernych (1, 2, 5, 6, 7, 8, 11, 13, 18).

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu Ivomecu na wybrane wskaźniki jakości nasienia knurów i wyniki unasieniania loch ich nasieniem.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 5 knurach rasy p.b.z., o masie ciała 280-300 kg, pochodzących z tego samego miotu. Knury

stanowiły własność Stacji Hodowli i Unasieniania Zwierząt i były eksploatowane zgodnie z harmonogramem produkcyjnym. Zwierzęta były systematycznie odrobaczane 2 razy w ciągu roku.

Knury podzielono na dwie grupy: I – grupa doświadczalna, obejmowała 3 sztuki; II – grupa kontrolna, obejmowała dwa knury. Do badań wykorzystano nasienie pobierane do celów produkcyjnych. Badanie nasienia przeprowadzano 1 × w tygodniu przez okres dwóch miesięcy. Po przeprowadzeniu badań wstępnych, zwierzętom grupy doświadczalnej na 24 godziny przed następnym pobraniem nasienia podano Ivomec (produkcji MSD AGVET, USA) w dawce przewidzianej dla trzody chlewnej (1 ml/33 kg m.c.).

W pobranym nasieniu oceniano objętość całkowitą ejakulatu, objętość produkcyjną (ejakulat po oddzieleniu frakcji galaretowatej), ruch indywidualny plemników, koncentrację plemników metodą kolorymetryczną. Ponadto określano przeżywalność plemników w temperaturze 25°C w nasieniu rozrzedzonym 2,9% cytrynianem sodu w stosunku 1:3 w 0, 6, 12 i 24 godzinie od pobrania nasienia. Dokonywano także oceny przeżywalności plemników w nasieniu rozrzedzonym rozrzedzalnikiem standardowym przeznaczonym do wysyłki na Punkty Unasieniania Loch. Nasienie to przechowywano w temperaturze pokojowej a oceny przeżywalności dokonywano po upływie 24, 48 i 72 godzin od czasu jego przygotowania. Określano również odsetek plemników martwych w nasieniu (preparaty barwiono barwnikiem eozynowo-nigrozynowym) oraz morfologię plemników, posługując się bydgoską metodą barwienia preparatów (4). Przeprowadzano także próbę odporności plemników na 1% NaCl (12).

Poza oceną laboratoryjną nasienia badanych knurów, dokonywano również oceny skuteczności krycia 330 loch nasieniem knurów doświadczalnych i 318 kontrolnych, przygotowanym według stosowanej w tym Zakładzie technologii z zastosowaniem rozrzedzalnika Merc III.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki badań przedstawiono w tab. 1, 2 i 3 oraz w formie opisowej. Analiza uzyskanych wyników badań nie wykazała wpływu stosowanego preparatu na objętość ejakulatu (zarówno całkowitą jak i produkcyjną), ruch indywidualny plemników, odsetek plemników martwych w nasieniu. Nie stwierdzono również ujemnego wpływu Ivomecu na proces spermatogenezy ocenianej w oparciu o badanie morfologii plemników w okresie trwania doświadczenia. Preparat ten spowodował natomiast skrócenie czasu przeżywania plemników w nasieniu, zarówno rozrzedzonym 2,9% cytrynianem sodu (tab. 2) jak i rozrzedzalnikiem produkcyjnym Merc III (tab. 1). Najwyraźniej zaznaczony spadek przeżywalności plemników wystąpił w ciągu trzech tygodni (3 kolejne pobrania nasienia) od chwili zastosowania preparatu. Największe różnice pomiędzy przeżywalnością plemników grupy kontrolnej i doświadczalnej obserwowano w nasieniu rozrzedzonym rozrzedzalnikiem Merc III w badaniu przeprowadzonym w 72 godzinie od chwili rozrzedzenia. Badania dotyczące oceny skuteczności unasieniania macior nasieniem knurów doświadczalnych wykazały wyższy odsetek loch powtarzających po

Tab. 1. Przeżywalność nasienia knurów doświadczalnych i kontrolnych (w %) rozrzedzonego rozrzedzalnikiem „Merc III” w przebiegu doświadczenia

	Czas przechowywania nasienia	Dni badania										
		-14	-7 ↓	1	7	14	21	28	35	42	49	56
Grupa kontrolna n = 2	24 h	70	70	70	70	70	70	70	80	75	80	80
	48 h	45	50	60	35	35	35	40	60	55	50	50
	72 h	35	25	30	10	20	10	15	30	30	30	30
Grupa doświadczalna n = 3	24 h	63	76	56	70	66	66	70	73	76	76	76
	48 h	53	56	43	33	33	26	36	43	36	43	43
	72 h	33	36	6	3	10	13	16	26	26	26	30

Objaśnienie: ↓ – podanie preparatu.

Tab. 2. Przeżywalność nasienia knurów doświadczalnych i kontrolnych (w %) rozrzedzonego 2,9% cytrynianem sodu w przebiegu doświadczenia

	Czas od pobrania nasienia	Dni badania										
		-14	-7 ↓	1	7	14	21	28	35	42	49	56
Grupa kontrolna n = 2	0 h	75	75	70	70	70	70	70	60	65	70	70
	6 h	65	60	35	50	30	35	45	30	35	40	40
	12 h	45	40	35	20	15	20	35	15	20	20	20
Grupa doświadczalna n = 3	0 h	70	73	73	70	70	66	73	60	63	66	70
	6 h	56	66	20	26	6	30	33	10	26	30	30
	12 h	33	43	6	6	0	10	10	16	16	16	16

Objaśnienie: jak w tab. 1.

Tab. 3. Odsetek macior powtarzających ruje po upływie 21 dni od unasiennienia nasieniem knurów doświadczalnych i kontrolnych*

Knyry	Kolejne dni badania nasienia										
	-14	-7 ↓	1	7	14	21	28	35	42	49	56
Grupa doświadczalna n = 3	24	24	27	29,0	36,0	17,0	18,0	19,0	25,0	20,0	20,0
	n = 34	n = 34	n = 24	n = 30	n = 36	n = 28	n = 34	n = 40	n = 22	n = 20	n = 28
Grupa kontrolna n = 2	25	25	21	21	25	21	19	20	23	21	20
	n = 24	n = 32	n = 28	n = 28	n = 32	n = 28	n = 32	n = 40	n = 26	n = 28	n = 20

Objaśnienia: * – wartości podano z dokładnością do 1%, ↓ – podanie preparatu.

unasiennieniu ich nasieniem pobranym w 1, 7 i 14 dniu od podania Ivomecu (tab. 3). Wartości te wynosiły odpowiednio dla grupy kontrolnej i doświadczalnej: 7 dni przed podaniem preparatu – 25% i 24%; 1 dzień po podaniu preparatu – 21% i 27%; 7 dni po podaniu preparatu – 21% i 29%; 14 dni po podaniu preparatu – 25% i 36%. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic pomiędzy grupą kontrolną i doświadczalną przy ocenie oporności plemników na 1% NaCl.

Po podaniu Ivomecu nie stwierdzono u zwierząt doświadczalnych objawów wskazujących na toksyczne lub inne jego uboczne działanie, wyrażone w postaci zmian w stanie ogólnym czy behawiorze seksualnym. Wcześniej powszechnie stosowany preparat fenchlorfos nie wywołał również zmian w stanie ogólnym, powodował jednak długotrwałą obniżkę ruchliwości nasienia, utrzymującą się przez okres dwóch miesięcy (8).

Wydaje się, że obserwowany w badaniach własnych krótszy czas przeżywania plemników w standardowo rozrzedzonym nasieniu, może obniżać jego zapłodniałość, szczególnie w przypadku unasiennienia loch nasieniem od produkcji którego upłynęło więcej niż 48 godzin. Taki pogląd znajduje potwierdzenie w zwiększonej powtarzalności macior po unasiennieniu ich nasieniem knurów doświadczalnych. Zmiany te były obserwowane po unasiennieniu nasieniem uzyskanym w 1, 7 i 14 dniu od chwili podania preparatu. Ocena wartości biologicznej nasienia dokonana w oparciu o odsetek loch powtarzających jest bardzo przydatna. Jak podają niektórzy autorzy (10) przeprowadzanie kontroli biologicznej nasienia przy niewielkich zmianach w jego wskaźnikach laboratoryjnych jest uzasadnione i wskazane ponieważ jest rzeczywistym miernikiem jego zdolności zapłodniającej. Reakcje samców różnych gatunków zwierząt na iwermeccytynę nie są identyczne.

Podawany psom preparat nie spowodował uchwytynych rutynowymi badaniami laboratoryjnymi zmian w ich nasieniu (3), natomiast podawany trykom w sezonie rozrodczym powodował zwiększenie objętości nasienia i obniżenie jego pH (13). Należy zaznaczyć, jednak że u niektórych ras psów obserwuje się zwiększoną wrażliwość na ivermektynę podawaną już w dawkach terapeutycznych (6). Nie napotkano natomiast w dostępnym piśmiennictwie danych dotyczących efektywności krycia lub unasieniania samic którym podawano Ivomec.

Reasumując należy stwierdzić, że w przypadku stosowania leków u samców zwierząt domowych, użytkowanych reprodukcyjnie, istnieje potrzeba oceny wpływu stosowanych środków na wartość zapładniającą nasienia. Ustalenie czasu trwania obniżonej wartości biologicznej nasienia samca użytkowanego rozplodowo, bez względu na przyczynę jej obniżenia (transport, ekstremalne warunki klimatyczne, leki, itp.) pozwala na jego czasowe wyłączenie z rozrodu. Takie postępowanie w konsekwencji może przynieść obniżenie kosztów i winno zwiększyć wiarygodność inseminacji jako nowoczesnej metody rozrodu.

Piśmiennictwo

1. Courtney C. H., Ingalls W. L., Stitzlein S. L.: Am. J. vet. Res. 44, 1220, 1983.
2. Dalton P. M., Ryan W. G.: Vet. Rec. 122, 307, 1988.

3. Daurio C. P., Gliman M. R., Pullian J. D., Seward R. L.: Am. J. vet. Res. 48, 12 (abstr.), 1987.
4. Glód W., Kaczmarszyk J.: Rozród i unasienianie trzody chlewnej. PWRiL, Warszawa 1982.
5. Grzywiński L., Kłiszewski E.: Medycyna Wet. 39, 663, 1983.
6. Gundlach J., Sadzikowski A. B.: Medycyna Wet. 50, 442, 1994.
7. Hogg A.: Proc. 8th Inter. Pig Vet. Soc. Congress, Ghent, Belgium, 1984, s. 206.
8. Jaśkowski L., Juszkiewicz T., Kosmala K., Szulc L.: Pol. Arch. wet. 16, 611, 1973.
9. Krause D., Reinhard H. J., Köhler W., Tiefenbach B.: Dt. tierärztl. Wschr. 82, 231, 1975.
10. Krzyżanowski J.: Pol. Arch. wet. 20, 17, 1977.
11. Małeckie G., Balcerak J.: Medycyna Wet. 44, 466, 1988.
12. Mann T.: The Biochemistry of semen. Methuen, London 1964.
13. Marchiando A. A., Szanto J.: Am. J. vet. Res. 48, 1233, 1987.
14. Schröder J., Swan G. E., Barrick R. A., Pulliam J. D.: J. S. Afr. vet. Ass. 57, 211, 1987.
15. Włodarczyk B., Biernacki B., Minta M.: Medycyna Wet. 48, 512, 1992.
16. Wrona Z.: Annls. Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. DD 39, 205, 1984.
17. Wrona Z., Krzyżanowski J., Wałkuska G., Madejski Z.: Medycyna Wet. 44, 619, 1988.
18. Ziomko J., Paciejewski S., Chowaniec W.: Medycyna Wet. 40, 538, 1984.

Adres autora: dr Zygmunt Wrona, ul. Emancypantek 3/7, 20-636 Lublin

JOANNA OTACHEL-HAWRANEK, EDWARD KORFANTY*, STANISŁAW SZACHNOWSKI*, MAREK ERBERT*, GRZEGORZ CISZEWSKI*, JULIAN JAKUBIAK*

Przydatność testu ELISA do wykrywania przeciwciał przeciw wirusowi EBB w pojedynczych i zbiorczych próbach mleka

Zakład Higieny Weterynaryjnej oraz *Wojewódzki Zakład Weterynarii, ul. Januszewicka 48, 50-983 Wrocław

Summary

The usefulness of the ELISA in detecting antibodies against EBB virus in individual and bulk milk samples

The aim of the studies was to determine the usefulness of the ELISA test to detect antibodies against EBB virus in the milk of cows from the Wrocław voivodship, where the test is to be used for the routine examination of milk. The results of this test were compared with blood sera examinations by the ID test. The studies were done on 29 milk samples including 17 bulk milk samples. A kit of „Leukotest” acc. to Bommeli was used. Except for 4 cases, the results of both tests were identical. Positive results in the ELISA test obtained with milk samples negative in the ID test point to a high sensitivity of ELISA.

The results obtained confirmed the usefulness of the ID test with blood sera to detect and control EBB. On the farms where the program of EBB eradication has been introduced, the latest negative results in the ID test have been in most cases confirmed by ELISA. ELISA, as one of the serological diagnostic methods, can be used to examine bulk milk in large farms free of EBB.

niskie poziomy przeciwciał, których obecności niejednokrotnie nie można wykazać innymi metodami.

Do serologicznego rozpoznawania enzootycznej białaczki bydła (EBB) u krów woj. wrocławskiego stosuje się głównie odczyn immunodyszki (ID) w żelu agarowym, a także test enzymatyczny ELISA, przy czym materiałem badanym w obydwu przypadkach jest surowica krwi. Trzykrotnie ujemny wynik badania serologicznego odczynem ID wykonanym w odstępach 3-4 miesięcznych jest jednym z warunków niezbędnych do uznania pojedynczego zwierzęcia lub stada za wolne od białaczki i wówczas są one badane kontrolnie w półrocznych odstępach czasu (wiosna-jesień).

Celem pracy było określenie przydatności testu enzymatycznego ELISA do wykrywania przeciwciał przeciw wirusowi EBB w mleku krów z terenu woj. wrocławskiego, w którym test ten ma być włączony do rutynowej diagnostyki w Zakładzie Higieny Weterynaryjnej.

Materiał i metody

Badania wykonano na 29 próbach mleka, w tym 17 próbach zbiorczych pochodzących z gospodarstw wielkostadnych i 12 pojedynczych próbach mleka pochodzących z gospodarstw indywidualnych z obsadą od 1 do kilku krów. Porównano wyniki uzyskane z badania mleka odczynem enzymatycznym ELISA z badaniami serologicznymi surowicy krwi tych krów odczy-

Testy enzymatyczne znajdują w świecie coraz większe zastosowanie do wykrywania różnych chorób zakaźnych, a także inwazyjnych. Zaletą ich jest duża czułość. Wykrywają one