

STRESZCZENIE

CHEMILUMINESCENCJA PŁYNÓW USTROJOWYCH W WYBRANYCH STANACH FIZJOLOGICZNYCH I PATOLOGICZNYCH BYDŁA DOMOWEGO (*BOS TAURUS*)

RADOSŁAW SKÓRZEWSKI

Słowa kluczowe: chemiluminescencja, płyny ustrojowe, krowy, mastitis, ruja

Celem pracy było opracowanie metodyki oznaczeń chemiluminescencji (CL) w krwi pełnej i mleku krów oraz ocena przydatności pomiarów CL w wybranych stanach fizjologicznych (ruja) i patologicznych bydła (zapalenie gruczołu mlekowego).

Badania przeprowadzono w trzech etapach wykorzystując materiał pobrany od 211 krów rasy holsztyńsko – fryzyjskiej odmiany czarno białej.

W pierwszym etapie badań poddano ocenie wpływ różnych czynników egzogennych na pomiary luminolo- i izoluminolozależnej CL w krwi pełnej (nastawy luminometru mikroplótkowego Luminoskan Ascent, objętość badanej próbki, stężenie wzmacniaczy CL, stężenie stymulatorów). Do badań wykorzystano krew żylną, pochodzącą od 31 klinicznie zdrowych krów mlecznych. Efektem tego etapu pracy było opracowanie metodyki oznaczeń CL spontanicznej i stymulowanej w krwi żyłnej oraz mleku. Jako optymalne przyjęto następujące warunki oznaczeń CL u bydła:

- napięcie na fotopowielaczu 1200 V, czas integracji – 1000 ms,
- czas pomiaru 60 min,
- temperatura 38°C,
- sposób przedstawienia wyników – pole powierzchni pod krzywą przebiegu CL w funkcji czasu liczone metodą sumowania prostokątów,
- objętość mieszaniny reakcyjnej – 450 μ l,
- objętość próbki krwi i mleka – 150 μ l,
- stężenie wzmacniaczy: 0,3 mM,
- stężenia stymulatorów Z, PMA, fMLP, odpowiednio: 0,22 mg/ml, 0,22 μ g/ml, 0,022 μ g/ml.

Drugim etapem badań były oznaczenia CL krwi pełnej oraz mleka krów z różnym stopniem zaawansowania miejscowego stanu zapalnego (*mastitis*). Zwierzęta podzielono na 3 grupy w zależności od intensywności stanu zapalnego szacowanego na podstawie oceny liczby komórek somatycznych w mleku:

- grupa I (kontrolna) – 35 osobników klinicznie zdrowych bez objawów *mastitis*, LKS w mleku do 100 tys./ml, wynik badania mikrobiologicznego ujemny, hematologia – wartości prawidłowe,

- grupa II – 30 krów chorych bez klinicznych objawów *mastitis*, LKS w mleku 100 tys./ml – 400 tys./ml, wynik badania mikrobiologicznego dodatni,
- grupa III – 43 zwierzęta chore z klinicznymi objawami *mastitis*, LKS w mleku > 400 tys./ml (mleko bez zmian makroskopowych), wynik badania mikrobiologicznego dodatni.

Materiałem badawczym była krew żylna oraz mleko pochodzące od 108 krów. W czasie do 3 godzin od momentu pobrania materiału oznaczano CL spontaniczną oraz stymulowaną receptorowo i pozareceptorowo. Efektem tego etapu badań było określenie zależności między zaawansowaniem stanu zapalnego wymienia, a CL krwi pełnej i mleka. Wykazano, że *mastitis* nie jest jedynie procesem miejscowym, ograniczonym do danej ćwiartki, ale wpływa również na funkcjonowanie całego organizmu. Manifestuje się to m.in. zwiększoną aktywnością CL nie tylko mleka zakażonych ćwiartek, ale również krwi obwodowej. Warto podkreślić potencjalne znaczenie diagnostyczne niniejszych badań. Ze względu na wykazanie istotnie większego związku między LKS, a CL mleka, aniżeli pomiędzy LKS, a CL krwi, celowe wydaje się wykorzystanie oznaczeń Cl mleka we wczesnym wykrywaniu, zwłaszcza podklinicznych postaci *mastitis*.

W trzecim etapie badano wpływ rui na pomiary CL krwi pełnej oraz mleka pochodzących od 72 klinicznie zdrowych krów. Oznaczano CL spontaniczną oraz stymulowaną receptorowo i pozareceptorowo. Ruję krów indukowano syntetycznym analogiem prostaglandyny F2 α w dawce 500 μ g/zwierzę. Krew oraz mleko pobierano dwukrotnie, bezpośrednio przed iniekcją analogu hormonu oraz w momencie wystąpienia rui (3/4 dzień po iniekcji). W przypadkach, gdzie nie zaobserwowano objawów rui krew pobierano na 3/4 dzień po iniekcji. Zwierzęta podzielono na 3 grupy:

- grupa I – krowy z kliniczną rują i ciążą potwierdzoną w 42 dniu po inseminacji,
- grupa II – zwierzęta z kliniczną rują bez potwierdzenia ciąży,
- grupa III – krowy bez klinicznych objawów rui, niezacielane.

Efektem tych badań było wykazanie wpływu cyklu rujowego na aktywność komórek zdolnych do produkcji reaktywnych form tlenu. W dniu wystąpienia rui stwierdzono bowiem wyraźny, statystycznie znamieny wzrost CL niestymulowanej oraz stymulowanej receptorowo i pozareceptorowo w krwi obwodowej. Wydaje się, że reakcja ta może być użyteczna np. w potwierdzaniu rui u krów. Istotny wzrost wartości CL stymulowanej i niestymulowanej krwi obwodowej przy braku wyraźnego wzrostu wartości wskaźników hematologicznych, LKS oraz braku patogenów w mleku może sugerować gotowość zwierząt do inseminacji, pomimo braku zauważalnych objawów rui.

28.02.2019 r.
Krzysztof Skórzewski