

ROZPOZNAWANIE CIAŻY U ŚWIŃ METODĄ BIOPSJI BŁONY ŚLUZOWEJ POCHWY

Piotr Jonderko

Klinika Położnicza, Ginekologiczna i Andrologiczna
Instytutu Chorób Niezakaźnych Akademii Rolniczo-Technicznej w Olsztynie
Z-ca dyrektora do spraw naukowych: doc. dr hab. Antoni Żebracki

Zmiany w histologicznej strukturze nabłonka pochwy u świń w różnych fazach cyklu płciowego opisane przez Wilsona [cyt. za 4] zostały przez badaczy rumuńskich [6, 7] rozszerzone i praktycznie wykorzystane w celu wczesnego rozpoznawania ciąży u świń. Dokładność i prostota tej metody została następnie potwierdzona przez innych autorów [2, 3, 4, 8, 9, 10, 11, 13, 15, 16, 18].

Zachodzące w cyklu płciowym i w ciąży zmiany w wielowarstwowym nabłonku płaskim pochwy u świń, stanowiące kryterium diagnozy ciąży, polegają na zmianie grubości warstwy nabłonka określonej liczbą warstw i układem komórek *lamina epithelialis* oraz na występowaniu figur podziałów mitotycznych w warstwie rozrodczej (*stratum germinativum*). Uwzględnia się również stopień pofałdowania warstwy brodawkowej (*stratum papillare*), złuszczenie się powierzchniowych warstw nabłonka oraz występowanie nacisku leukocytnego (tab.). Liczba warstwy komórek nabłonka waha się w poszczególnych fazach cyklu płciowego od 4 do 20.

W okresie przedrujowym (*proestrus*) następuje szybka proliferacja nabłonka, który osiąga w okresie rui (*oestrus*) wysokość 100-120 μ i składa się z 16-20 warstw komórek. Warstwa nabłonka układa się w tym czasie w charakterystyczne fałdy, tworząc na przekroju wiele krypt. Powyżej intensywnie barwiących się pryzmatycznych komórek warstwy rozrodczej (*stratum germinativum*) leży wiele nieregularnie ułożonych warstw różnokształtnych komórek warstwy kolczystej (*stratum spinosum*) i ziarnistej (*stratum granulosum*) ze słabo barwiącymi się jądrami komórkowymi. W okresie kończącej się rui pojawiają się pojedyncze lub liczne leukocyty, co zaznacza się najwyraźniej w okresie porujowym (*metao-*

T a b e l a

Cechy charakteryzujące nabłonek pochwy u sówiń cięźarnych i niecięźarnych

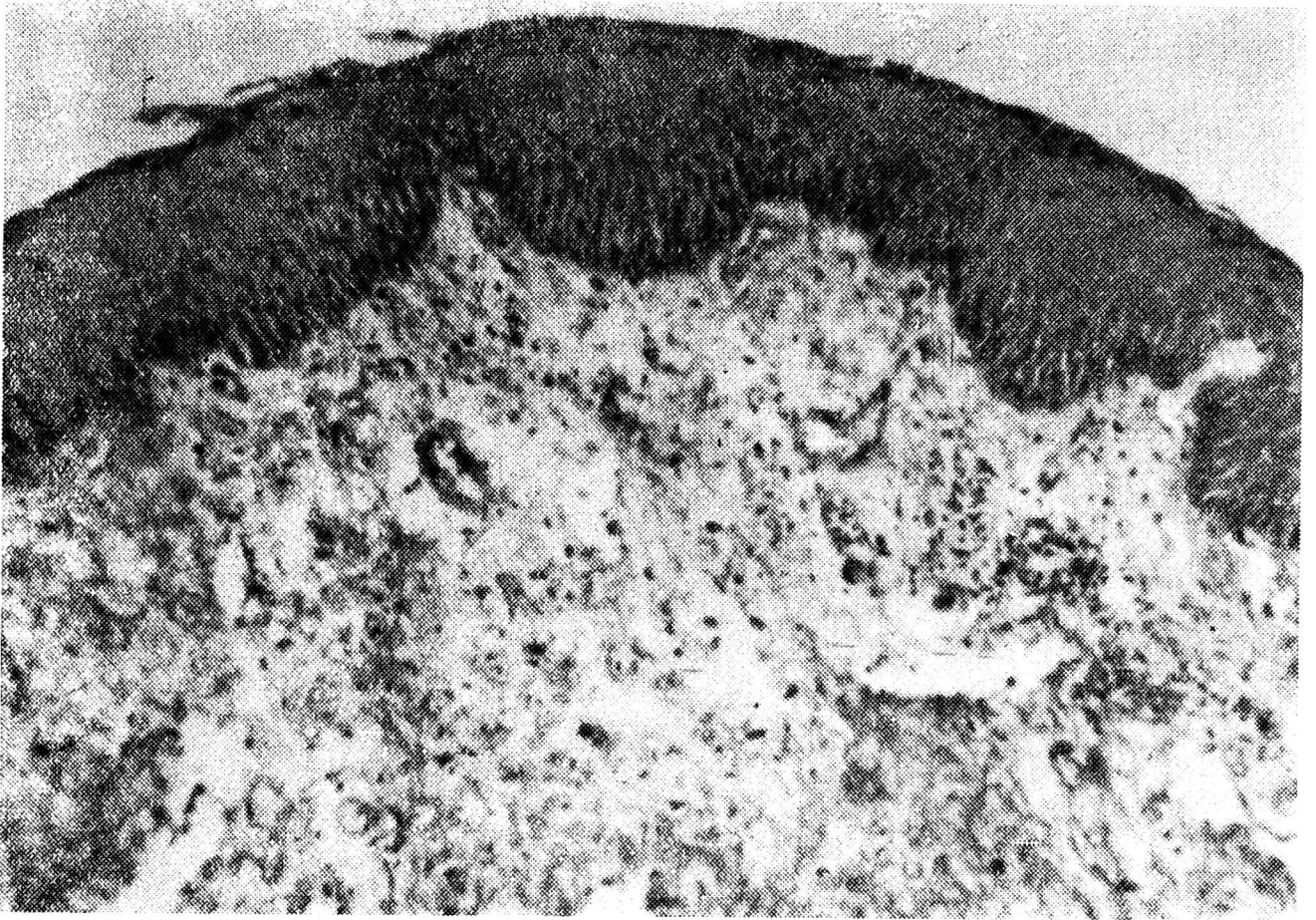
Cechy nabłonka	Cięźa	Brak cięźy
Liczba warstw komórek	2-3	4-20
Układ komórek (jąder komórkowych)	regularny (2-3 rzędy jąder)	nieregularny (3 rzędy jąder)
Podziały komórkowe	brak	obecne
Typy (kształt) komórek	jednolity	różny
Krypty	brak (ew. pojedyncze)	obecne
Złuszczenie warstw powierzchniowych	brak	obecne
Naciek leukocytny	brak (ew. pojedyncze)	obecny

estrus). W tym też czasie obserwuje się szybką redukcję liczby warstw komórek, spowodowaną złuszczeniem się powierzchniowych warstw nabłonka pochwy, co trwa aż do osiągnięcia 3-5 warstw komórek w późnym okresie międzyrujowym. W fazie lutealnej cyklu płciowego linia nabłonka wygładza się, krypty ulegają spłyceniu, zawsze jednak w ich zagłębieniach obserwuje się 5-6 warstw komórek, w których można stwierdzić występowanie wodniczek. Zwrócona do światła pochwy krawędź nabłonka jest postrzępiona, co stanowi ślad po procesie złuszczenia się nabłonka.

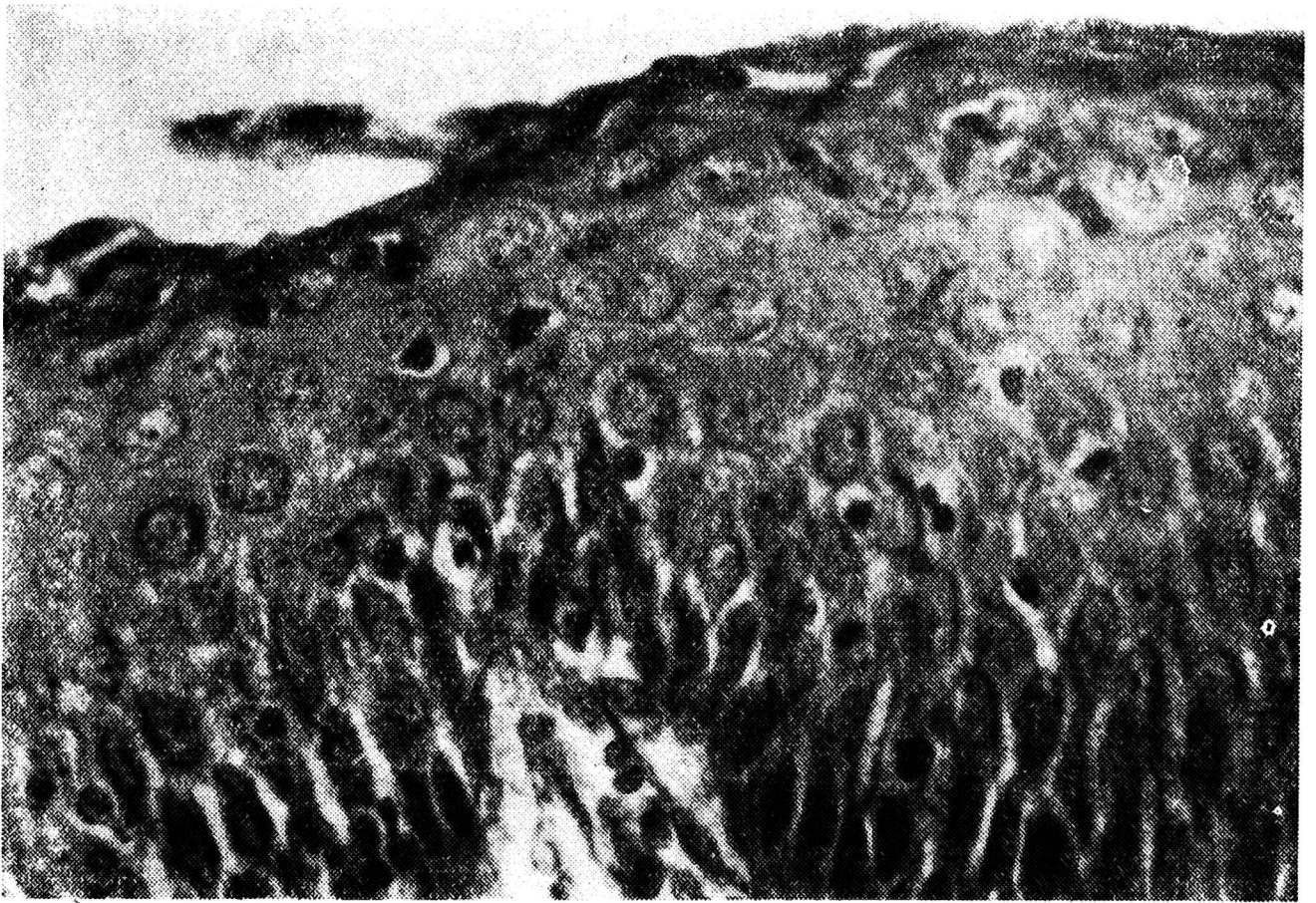
Około 17-18 dnia pojawiają się pierwsze oznaki nadchodzącej rui w postaci występowania figur podziałów mitotycznych w pojedynczych komórkach warstwy rozrodczej nabłonka. W przypadku cięźy proces zmniejszania się liczby warstw nabłonka przebiega dalej.

Nabłonek pochwy cięźarnej sówini zawiera 2 lub najwyżej 3 warstwy komórek regularnie ułożonych. Są one najpierw kuboidalne (brukowe) a w miarę rozwoju cięźy stają się płaskie. Owalno-okrągłe, intensywnie barwiące się jądra komórkowe mają tendencję do układania się długą osią równoległą do powierzchni nabłonka, tworząc wyraźnie widoczne, regularne rzędy. Ciało brodawkowate jest zazwyczaj gładkie. Warstwa 2-3 komórek nabłonka jest znacznie cieńsza w okresie cięźy aniżeli w *dioestrus*, a wysokość jej wynosi około 18-20 μ .

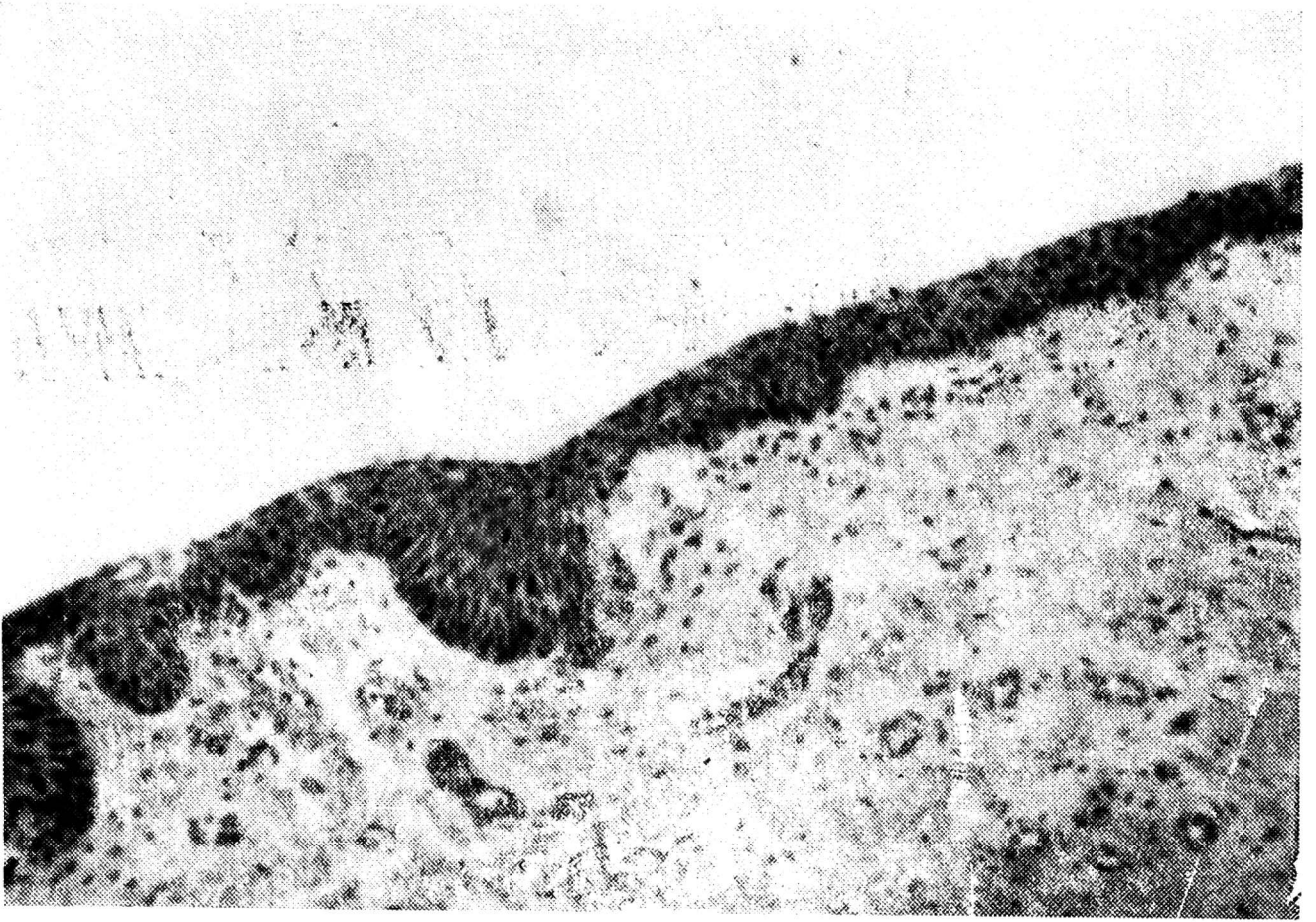
Potrzeba prostej, bezpiecznej i dokładnej metody rozpoznawania wczesnej cięźy u sówiń, zwłaszcza w wielkotowarowych fermach tuczu trzody chlewnej, skłoniła autora do prowadzenia badań, których celem była ocena przydatności rozpoznawania cięźy metodą histologiczną.



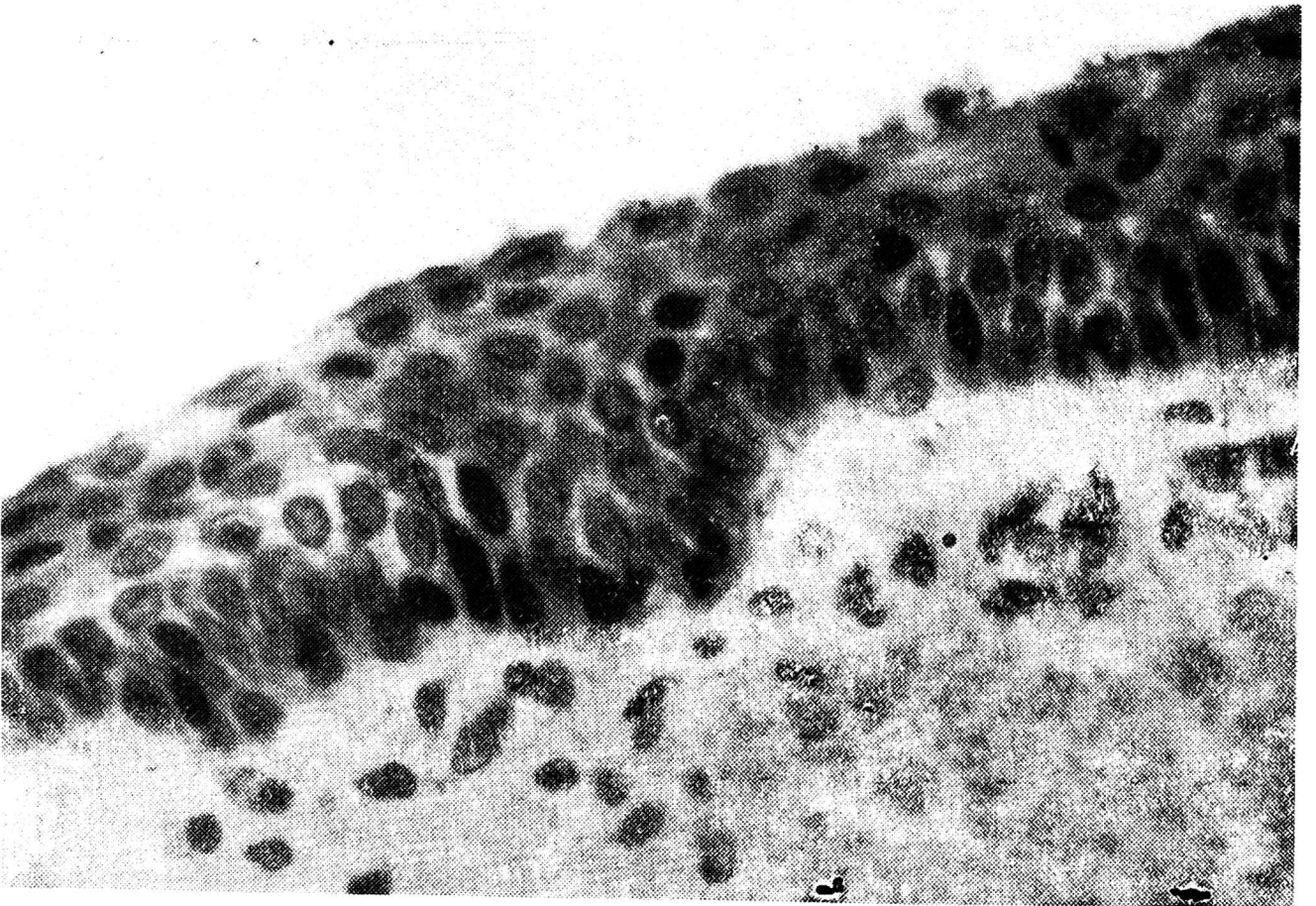
Rys. 1. Obraz histologiczny nabłonka błony śluzowej pochwy świni w końcowym okresie rui (powiększenie 150 ×). Fot. inż. C. Nagieć



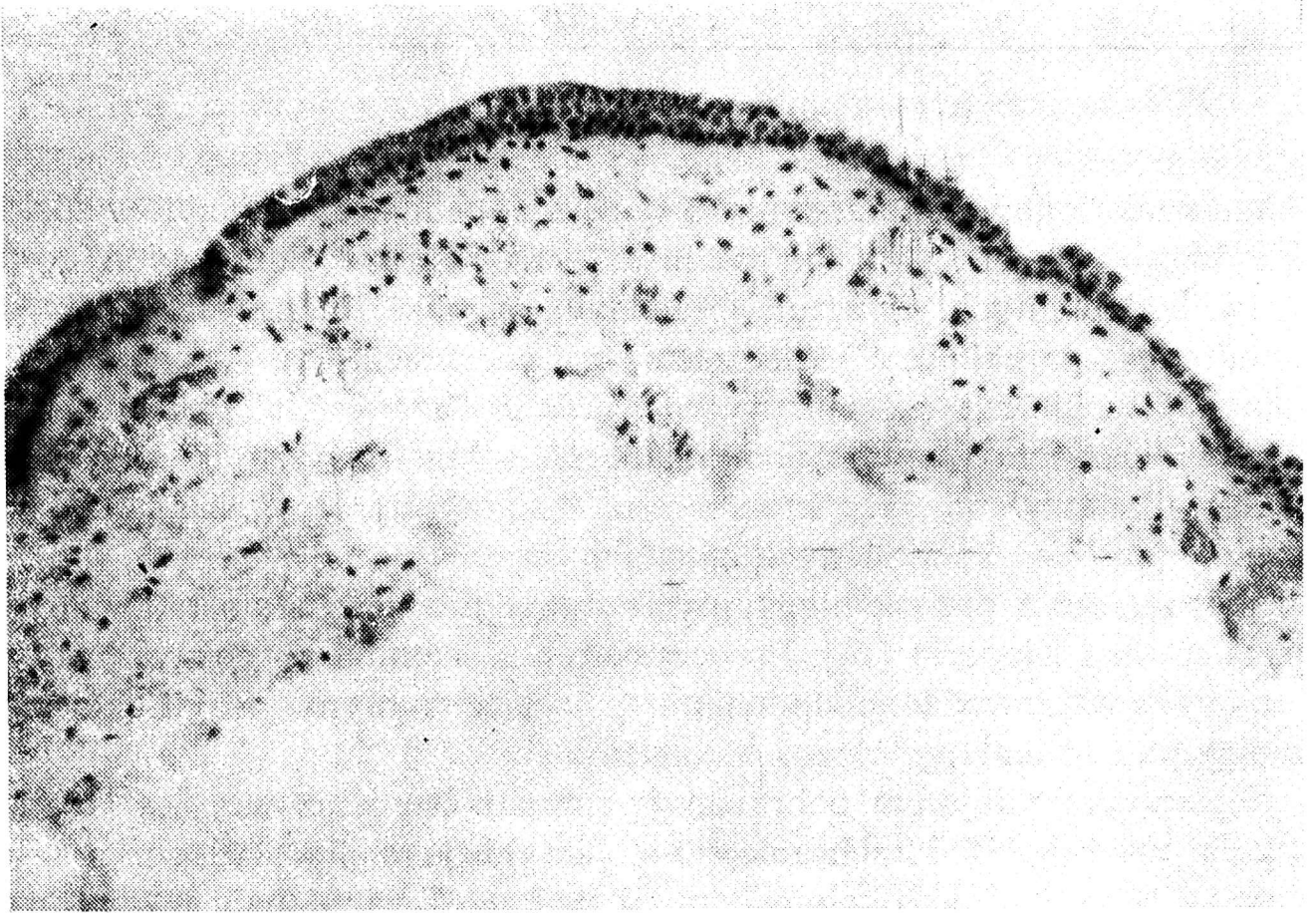
Rys. 2. Obraz histologiczny nabłonka błony śluzowej pochwy świni w końcowym okresie rui (powiększenie 600 ×). Fot. inż. C. Nagieć



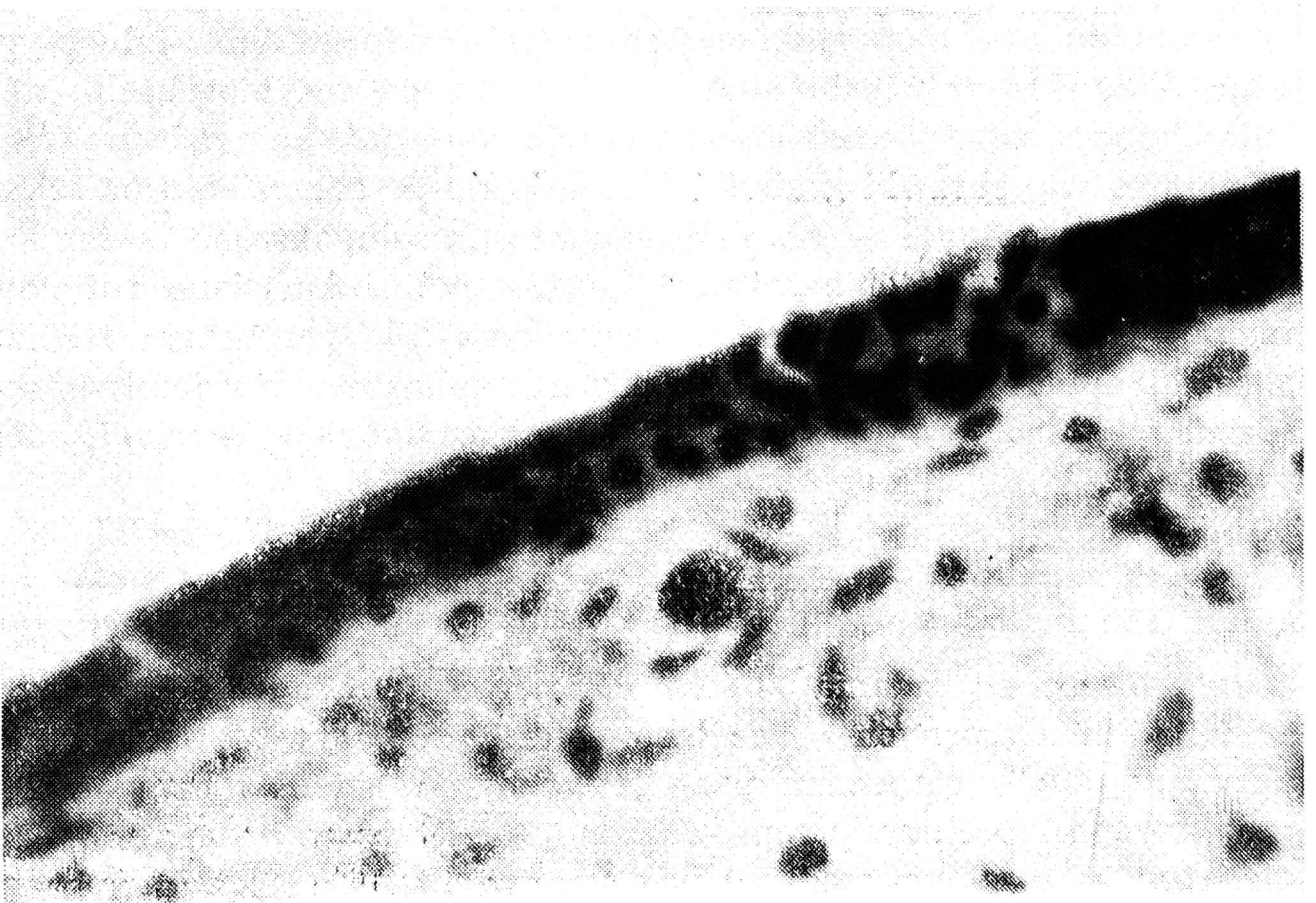
Rys. 3. Obraz histologiczny nabłonka błony śluzowej pochwy świni w okresie fazy lutealnej — *dioestrus* (powiększenie 150 X). Fot. inż. C. Nagieć



Rys. 4. Obraz histologiczny nabłonka błony śluzowej pochwy świni w okresie fazy lutealnej — *dioestrus* (powiększenie 600 X). Fot. inż. C. Nagieć



Rys. 5. Obraz histologiczny nabłonka błony śluzowej pochwy świni ciężarnej (powiększenie 150 X). Fot. inż. C. Nagieć



Rys. 6. Obraz histologiczny nabłonka błony śluzowej pochwy świni ciężarnej (powiększenie 600 X). Fot. inż. C. Nagieć

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły 24 świnie poddane ubojowi w Zakładach Mięsnych oraz 47. świń pochodzących z kilku okolicznych gospodarstw hodowlanych. U sztuk ciężarnych próbki biopsyjne pobierano bezpośrednio po ubiciu, a jednocześnie badano macicę na obecność i wiek płodów. U zwierząt nieciężarnych oceniano fazę cyklu płciowego na podstawie badania (po uboju) narządu płciowego. W grupie macior hodowlanych notowano daty krycia oraz terminy oproszeń. Badane zwierzęta znajdowały się w różnych okresach ciąży.

Do pobierania próbek biopsyjnych służył przyrząd skonstruowany wg opisu Leidla i Biegerta [14]. Po oczyszczeniu sromu i po rozwarciu warg sromowych wprowadzono do pochwy, wyjęty z płynu dezynfekcyjnego o temperaturze ciała, przyrząd biopsyjny.

Najlepszym miejscem pobrania wycinka błony śluzowej jest przedni odcinek pochwy. U loszek miejsce to znajduje się w odległości około 15 cm, a u wieloródek około 30 cm od sromu. Wycinki pobrane z innych miejsc pochwy, mają inną budowę histologiczną. Jeżeli pobrany wycinek nabłonka jest nieodpowiedni do przeprowadzenia dalszych badań, pobiera się drugi wycinek. Krwawienie występuje w wyjątkowych przypadkach i jest ono niewielkie, a stwierdzić je można dopiero przy ponownym wprowadzeniu przyrządu.

Pobraną próbkę biopsyjną utrwalono w 4% formalinie lub płynie Bouina. Wygodne w użyciu okazały się fiołki po antybiotykach, które w całości napełniano płynem utrwalającym. Następnie sporządzono (techniką parafinową) skrawki grubości 8-10 μ , które po naniesieniu na szkiełka podstawowe pokryte mieszaniną białka i glicerolu, suszono w cieplarni przez 2-3 godziny w temperaturze 37°C, a potem barwiono rutynowo hematoksyliną i eozyną. Po zakończeniu barwienia preparaty zatapiano w balsamie kanadyjskim i oglądano pod mikroskopem. Niewłaściwie sporządzone preparaty, a przede wszystkim skośnie cięte skrawki, mogą prowadzić do błędnych rozpoznań [5].

WYNIKI I OMÓWIENIE

Przeprowadzono badania 53 świń ciężarnych i 18 świń nieciężarnych. U zwierząt nieciężarnych obraz histologiczny wskazywał wyraźnie na brak ciąży (100% rozpoznań prawidłowych). W wyniku histologicznej oceny śluzówki pochwy przeprowadzonej u 53 świń ciężarnych, ciążę potwierdzono w 49 przypadkach, co stanowi 92,46% rozpoznań prawidłowych. Z pozostałych 4 sztuk, u których ciąży nie potwierdzono badaniem histologicznym, u 3 stwierdzono ciążę czteromiesięczną.

Podobne, ujemne wyniki u wysokociężarnych świń otrzymał Done [9]. Związane to jest z występowaniem u świń po 90 dniu ciąży zwiększonej liczby warstw komórek, ułożonych dość nieregularnie, co jest spowodowane wzrastającym w tym czasie poziomem estrogenów pochodzenia łożyskowego [10].

Badania nad oceną histologicznej metody rozpoznawania ciąży u świń potwierdziły wyniki uzyskane przez innych autorów i dały wysoki procent rozpoznań pozytywnych. Po uwzględnieniu zaleceń innych autorów [9, 10], aby nie wykonywać badań po dziewięćdziesiątym dniu ciąży, ze względu na występowanie nietypowych dla ciąży obrazów histologicznych, procent prawidłowych rozpoznań w badaniach własnych byłby znacznie wyższy.

Większość publikowanych prac podaje, że dokładność tej metody wynosi 90-96% i to dopiero od 30 dnia ciąży, co wskazuje że diagnoza jest o wiele trudniejsza niż sądzono wcześniej.

Procent pozytywnych rozpoznań wzrasta, jeżeli badający zna zarówno terminy kryć i oproszeń, a próbki do badań pobierano w ściśle określonym czasie. Za najskuteczniejszy okres wykonywania badań, warunkujący najwyższy procent prawidłowych rozpoznań uważa się termin między 22-25 dniem ciąży [4, 15, 16].

Do przyczyn powodujących błędne rozpoznanie zaliczyć należy: pobranie wycinka do badań z niewłaściwego miejsca w pochwie, nieprawidłowe sporządzenie preparatów, występowanie wczesnej śmierci zarodkowej i ronień oraz wówczas gdy większość płodów jest płci żeńskiej [5, 9, 12, 13, 17]. Dlatego w przypadkach budzących wątpliwości, konieczne jest powtórne pobranie wycinka śluzówki do badań.

Sporządzanie preparatów techniką parafinową jest stosunkowo czasochłonne. Zastosowanie mikrotomu mrozeniowego wybitnie skraca czas otrzymania preparatu [2, 5, 9, 13].

Dalszym udoskonaleniem jest bezpośrednia obserwacja świeżych skrawków w mikroskopie kontrastowo-fazowym co daje również wysoki procent rozpoznań pozytywnych w porównaniu ze skrawkami barwionymi hematoksyliną i eozyną [8].

Wczesne rozpoznanie ciąży u świń może być stosowane przy poświadczeniu ciąży podczas sprzedaży i ocenie prawidłowej płodności macior. Szczególnie jednak ekonomiczne uzasadnienie znajdować powinna ta metoda w stadach podstawowych wielkich ferm tuczu trzody chlewnej, w których prawidłowe kierowanie rozrodem, celem osiągnięcia maksymalnej racjonalizacji i opłacalności, wymaga stosowania oprócz synchronizacji rui i sztucznego unasienniania wprowadzenia wczesnego rozpoznawania ciąży [1].

PISMIENICTWO

1. Bogdan A. T., Bogdan I.: Probleme der Fortplauzungstechnologie in der industriemässigen Schweineproduktion. Zuchthyg. 7, 91, 1972.
2. De Bois C. H. W., Muurling E., Wensing C. J. G.: Histologisch drachtigheidsonderzoek bij het varken door middel van biopsieën van het vaginale slijmvlies. Tijdschr. Diergene — esk. 19, 1917, 1965.
3. Boyd H., Mc Laren R. D.: Vaginal histology and pregnancy diagnosis in sows. Gth Inter. Cong. Anim. Reprod. Paris. 6(1), 401, 1968.
4. Busch W.: Beitrag zur histologischen Diagnose der Trächtigkeit beim Schwein durch Vaginalbiopsie. Mh. Vet-Med. 18, 813, 1963 a.
5. Busch W.: Die Durchführung der Vaginalbiopsie beim Schwein zur Trächtigkeitsfestellung. Mh. Vet-Meed. 18, 904, 1963 b.
6. Ciurea V., Neumann F., Olarian E., Patea Z.: Histologia Mucoaseo vaginale la Scroafele Gestante si Negestante. Probleme Zootechnice si Veterinare 7, 1, 1954.
7. Ciurea V., Neumann F., Diagnosticul Histological Gestattier la Scroafa. Probleme Zootchnice si Veterinare. 11, 1, 1954.
8. Diehl J. R., Day B. N.: Early diagnosis of pregnancy in Swine by use of the vaginal biopsy technique. J. Anim. Sci. 31, 1032, 1970.
9. Done J. T., Heard T. W.: Early pregnancy diagnosis in the sow by vaginal biopsy. Vet. Rec. 82, nr 3, 64, 1968.
10. Kubomichi M.: Studies on the urinary estrogens of pregnant sows. Natn. Inst. Anim. Hith. Qt., Tokyo. 6, 33, 1966.
11. Kuhlmann W.: Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein. Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 76, 143, 1963.
12. Kuhlmann W.: Beitrag zur histologischen Diagnose der Trächtigkeit beim Schwein durch Vaginalbiopsie (Verläufige Mitteilung). Mh. Vet-Med. 19, 247, 1964.
13. Kuhlmann W., Schroeder D.: Technik und Ergebnisse der bioptischen Trächtigkeitsuntersuchung beim Schwein. Tierärztl. Umsch. 19, 112, 1964.
14. Leidl W., Biegert W.: Ein Saugbiopsiegerät zur Entnahme von Vaginalepithel für die Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein. Zuchthyg. 2, 30, 1967.
15. Mather E. C., Diehl J. R., Thumbelson M. E.: Pregnancy diagnosis in swine utilizing the vaginal biopsy technique. J. Am. vet. med. Ass. 157, nr 11, 1522, 1970.
16. Morton D. B., Rankin J. E. F.: The histology of the vaginal epithelium of the sow in oestrus and its use in pregnancy diagnosis. Vet. Rec. 84, nr 26, 658, 1969.
17. Schaetz F., Busch W.: Zum Stand der Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein. Mh. Vet-Med. 18, 499, 1963.
18. Walker D.: Diagnosis of pregnancy in pigs by examination of vaginal mucosae. Vet. Rec. 81, nr 25, 648, 1967.

Streszczenie

Histologiczna ocena wycinków błony śluzowej pochwy jest dokładną metodą rozpoznawania wczesnej ciąży u świń. U ciężarnych świń nabłonek pochwy składa się z 2-3 warstw, w przeciwieństwie do 4-20 warstw komórek występujących u zwierząt nieciężarnych, w poszczególnych fazach cyklu płciowego.

Wykonana u 53 ciężarnych i 18 nieciężarnych świń histologiczna ocena nabłonka pochwy dała 92,46% pozytywnych rozpoznań ciąży oraz potwierdziła w 100% brak ciąży. Zdaniem autora metoda ta może znaleźć zastosowanie w kierowaniu i kontroli rozrodu u świń.

П. Ёндерко

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ У СВИНЕЙ
МЕТОДОМ БИОПСИИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ВЛАГАЛИЩА

Резюме

Гистологическая оценка вырезков слизистой оболочки влагалища является точным методом определения ранней беременности у свиней. У беременных свиных влагалищный эпителий состоит из 2-3 слоёв в противоположность к 4-20 слоев клеток, выступающих у небеременных животных в отдельных фазах полового цикла.

Проведённая у 53 беременных и 18 небеременных свиных гистологическая оценка эпителия влагалища дала 92,46% положительного определения беременности и подтвердила в 100% отсутствие беременности.

По мнению автора этот метод может применяться в контроле и регулировании плодovitости свиных.

P. Jonderko

BIOPSY OF VAGINAL MUCOSA IN DIAGNOSING PREGNANCY IN PIG

Summary

Histological examination of clippings of vaginal mucous membrane is an exact method for diagnosis of early pregnancy in pig. In pregnant females the epithelium in the vagina consists of 2-3 layers of cells in contrary to 4-20 layers of cells occurring in non-pregnant animals in particular stages of sexual cycle.

Histological examination of segments of vaginal epithelium taken from 53 pregnant and 18 non-pregnant females gave positive diagnosis of pregnancy in 92,46% cases and confirmed the pregnancy lack in 100%.

According to the author this method can be applied in management and control of reproduction in pig.