



# KONGRES PTNW

*Nauka  
praktyce*



13–15 IX 2012



UNIwersytet  
PRZYRODniczy  
WE WROcŁAWIU

WYDZIAŁ MEDYCYNY  
WETERYNARYJNEJ

KONGRES  
PTNW

*Nauka  
praktyce*



*Opracowanie redakcyjne*  
Elżbieta Winiarska-Grabosz

*Korekta:*  
Elżbieta Winiarska-Grabosz  
Magdalena Kozińska

*Redakcja techniczna*  
Halina Sebzda

*Logotyp kongresu i projekt okładki*  
Arthur Krupa

*Przygotowanie okładki i stron tytułowych*  
Paweł Wójcik

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław 2012

**WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU PRZYRODNICZEGO WE WROCŁAWIU**  
**Redaktor Naczelny – prof. dr hab. inż. Andrzej Kotecki**  
**ul. Sopocka 23, 50-344 Wrocław, tel. 71 328 12 77**  
**e-mail: wyd@up.wroc.pl**

---

Nakład 500 + 16 egz. Ark. wyd. 61,25. Ark. druk. 91  
Druk i oprawa: Print Sp. j.



## **KOMITET HONOROWY**

Prof. dr hab. Barbara Kudrycka – Minister Nauki i Szkolnictwa Wyższego

Stanisław Kalemba – Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi

Janusz Związek – Główny Lekarz Weterynarii

Prof. dr hab. Andrzej Koncicki – Prezes PTNW, Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

Prof. dr hab. Marian Binek – Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie

Prof. dr hab. Stanisław Winiarczyk – Dziekan Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

Prof. dr hab. Włodzimierz Kluciński – Przewodniczący Komitetu Nauk Weterynaryjnych PAN

Prof. dr hab. dr h.c. mult. Marian Truszczyński – Członek rzeczywisty PAN

Prof. dr hab. dr h.c. Tadeusz Krzymowski – Członek rzeczywisty PAN

Prof. dr hab. dr h.c. Zygmunt Pejsak – Członek rzeczywisty PAN

Prof. dr hab. Jan Żmudziński – Członek korespondent PAN

Dr Krzysztof Niemczuk – Dyrektor Państwowego Instytutu Weterynaryjnego Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Prof. dr hab. dr h.c. mult. Ryszard Badura

Prof. dr hab. dr h.c. Jerzy Kita

Prof. dr hab. Iwona Markowska-Daniel – Sekretarz Naukowy PTNW

Prof. dr hab. Jerzy Jaroszewski – Członek Zarządu PTNW

Prof. dr hab. Stanisław Kossakowski

Prof. dr hab. Zdzisław Larski

Prof. dr hab. Marian Tischner

Prof. dr hab. Krzysztof Świerzyński

Lek. wet. Zofia Batorczak – Dolnośląski Wojewódzki Lekarz Weterynarii

Lek. wet. Jan Dorobek – Prezes Dolnośląskiej Izby Lekarsko-Weterynaryjnej

## **KOMITET ORGANIZACYJNY**

Prof. dr hab. Jan Twardoń – Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego

Prof. dr hab. Alina Wieliczko – Wiceprzewodnicząca Komitetu Organizacyjnego

Prof. dr hab. Stanisław Graczyk

Dr hab. Andrzej Gaweł, prof. nadzw.

Dr Robert Karczmarczyk

Dr Maciej Kuczkowski

Lek. wet. Jacek Mrowiec

Lek. wet. Marta Gotowiecka

Lek. wet. Magdalena Wereszczyńska

Lek. wet. Klaudia Chrząstek

Dr Małgorzata Ochota

Małgorzata Wiewióra

## KOMITET NAUKOWY

Prof. dr hab. Alina Wieliczko – Przewodnicząca Komitetu Naukowego  
Prof. dr hab. Jan Twardoń – Wiceprzewodniczący Komitetu Naukowego  
Prof. dr hab. Marian Binek  
Prof. dr hab. Maciej Gajęcki  
Prof. dr hab. Andrzej Koncicki  
Prof. dr hab. Roman Kołacz  
Prof. dr hab. Roman Lechowski  
Prof. dr hab. Mirosław Łakomy  
Prof. dr hab. Michał Mazurkiewicz  
Prof. dr hab. Józef Nicpoń  
Prof. dr hab. Bożena Obmińska-Mrukowicz  
Prof. dr hab. Zygmunt Pejsak  
Prof. dr hab. Elżbieta Pełczyńska  
Prof. dr hab. Norbert Pospieszny  
Prof. dr hab. Andrzej Posyniak  
Prof. dr hab. Jacek Roszkowski  
Prof. dr hab. Zdzisław Staroniewicz  
Prof. dr hab. Tadeusz Stefaniak  
Prof. dr hab. Wojciech Szweda  
Prof. dr hab. Marcin Światała  
Prof. dr hab. Jan Uradziński  
Dr hab. Adam Malicki, prof. UP we Wrocławiu  
Dr hab. Jarosław Bystron  
Dr hab. Wojciech Nizański  
Dr hab. Urszula Paśawska  
Dr hab. Krzysztof Rypuła  
Dr Mirosław Kalicki  
Dr Tomasz Piasecki  
Dr Jan Żelazny





## Szanowni Państwo

Wydział Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu po szesnastu latach jest ponownie organizatorem Kongresu Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych – i jest to już XIV Kongres PTNW. Powierzenie naszemu wrocławskiemu ośrodkowi realizacji tak wielkiego wydarzenia naukowego to niewątpliwie wielki splendor, ale przede wszystkim sprawdzian naszych kompetencji zawodowych i umiejętności organizacyjnych.

XIV Kongres PTNW odbywa się pod hasłem „Nauka praktyce”. Jego celem jest przybliżenie osiągnięć nauki z obszaru nauk weterynaryjnych i im pokrewnych uczestnikom Kongresu – lekarzom weterynarii, hodowcom, firmom współpracującym w tym obszarze, jak również pracownikom naukowym, technicznym oraz studentom. Kongres to również szansa dla młodych pracowników, którzy są na początku swojej kariery zawodowej, do zaprezentowania wyników badań na tak szerokim i autorytatywnym forum.

Zainteresowanie aktywnym uczestnictwem w Kongresie jest bardzo duże, o czym świadczy liczba zgłoszonych – aż 701 – tematów do prezentacji ustnych i posterowych podczas obrad plenarnych oraz w piętnastu sekcjach. Tak szeroki obszar tematyczny Kongresu pozwoli każdemu z uczestników wybrać interesujące zagadnienia, które wzbogacą jego wiedzę i umiejętności praktyczne.

W trakcie trwania Kongresu odbędą się wiele spotkań towarzyskich, które są nieodłącznym elementem tego rodzaju wydarzeń naukowych, ponieważ nie tylko pozwalają na rozszerzanie dyskusji, wymianę poglądów na tematy zawodowe i społeczne, ale także na nawiązanie czy odnowienie przyjaźni.

Jestem przekonany, że XIV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych spełni Państwa oczekiwania i przyczyni się do dalszej integracji naszego środowiska.

Składam serdeczne podziękowania tym wszystkim, którzy współdziałali w przygotowaniu Kongresu i wspierali zamierzenia organizatorów. Szczególnie dziękuję autorom referatów, doniesień naukowych i plakatów.

Życzę Państwu owocnej dyskusji w trakcie obrad, a także miłego pobytu we Wrocławiu.

Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego  
prof. dr hab. Jan Twardoń





# Spis treści

<b>REFERATY PLENARNE .....</b>	<b>13</b>
<b>SEKCJE KONGRESU .....</b>	<b>23</b>
SEKCJA DOBROSTANU ZWIERZĄT I HIGIENY ŚRODOWISKA .....	25
SEKCJA ADMINISTRACJI WETERYNARYJNEJ.....	63
SEKCJA FARMAKOLOGII I TOKSYKOLOGII .....	79
SEKCJA FIZJOLOGII I PATOLOGII KONIA.....	123
SEKCJA FIZJOLOGII I PATOLOGII NOWORODKA.....	179
SEKCJA FIZJOLOGII I PATOLOGII PRZEŻUWACZY .....	197
SEKCJA FIZJOLOGII I PATOLOGII PSÓW I KOTÓW .....	277
SEKCJA FIZJOLOGII I PATOLOGII PTAKÓW .....	393
SEKCJA FIZJOLOGII I PATOLOGII ŚWIŃ .....	437
SEKCJA HIGIENY PASZ.....	473
SEKCJA HIGIENY ŻYWNOŚCI I WETERYNARYJNEJ OCHRONY ZDROWIA PUBLICZNEGO ....	499
SEKCJA HISTORII MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ .....	571
SEKCJA NAUK PODSTAWOWYCH I PRZEDKLINICZNYCH.....	593
SEKCJA ZWIERZĄT NIEUDOMOWIONYCH I FUTERKOWYCH.....	645
SEKCJA RYB.....	695
<b>INDEKS AUTORÓW.....</b>	<b>715</b>





13–15 IX 2012



UNIwersytet PRZYRODniczy  
WE WROcŁAWIU  
WYDZIAŁ MEDYCYNy  
WETERYNARYJNEJ



KONGRES  
PTNW

REFERATY PLENARNE

JAN MIODEK

*Uniwersytet Wrocławski*

ANDRZEJ GŁADYSZ,

KATARZYNA FLEISCHER-STĘPNIEWSKA

*Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu*

MARCIN ŚWITAŁA

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu*

INGO NOLTE

*Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Deutschland*





## CHOROBY ZAKAŻNE – TERAŻNIEJSZOŚĆ I PRZYSZŁOŚĆ

### INFECTION DISEASES – TODAY AND PERSPECTIVES

Andrzej Gładysz, Katarzyna Fleischer-Stępniewska

Choroby zakaźne zawsze towarzyszyły człowiekowi, a drobnoustroje ewoluowały równocześnie z gospodarzami, przystosowując się ze zmiennym efektem do nowych warunków zakażenia, nosicielstwa i transmisji. Nie zawsze więc to, co wydaje się nowym zagrożeniem biologicznym, faktycznie stanowi wcześniej nieznaną formę. Obserwowany powrót „starych” patogenów i chorób wcześniej znanych, objawiających się w odmiennym środowisku, w praktyce oznacza jednak nowe wyzwanie. Zatem, coraz poważniejszym problemem staje się także różnicowanie „kolonizacji” od „zakażenia”. Decyzja o podjęciu leczenia wydaje się szczególnie trudna w przypadku chorych hospitalizowanych przez długi okres, z założonymi liniami naczyniowymi, cewnikiem dopęcherzowym, poddawanych inwazyjnym procedurom terapeutycznym.

#### „Nowe” choroby zakaźne

Środowisko życia człowieka determinuje rodzaj i ryzyko narażenia na czynniki zakaźne. Pokarm, sposób jego przygotowania oraz bliskość życia ze zwierzętami stanowią element kultury specyficznej dla różnych regionów świata. W regionach azjatyckich, w których kontakt ze zwierzętami jest bliski, dochodzi do przełamywania barier międzygatunkowych, co umożliwia rozwój choroby, np. epidemii SARS i pandemii grypy, a także endemiczne szerzenie wirusowych zapaleń mózgu. Podróże i fascynacje kulinarne oraz zmiany klimatyczne ułatwiają ekspansję geograficzną chorób zakaźnych w niewyobraźalnie krótkim czasie. Byłoby to niemożliwe z przyczyn obiektywnych jeszcze 100 lat temu. Rozwój biologii molekularnej pozwolił na identyfikację białka jako nośnika informacji zakaźnej. Priony, które występują w każdym organizmie i stanowią element układu nerwowego, zmieniając układ przestrzenny, nabywają cech cząstki infekcyjnej. Ich identyfikacja i przedstawiona przez Stanleya B. Prusiner’a w 1982 r. na łamach *Science* koncepcja chorobotwórczości w patologii ośrodkowego układu nerwowego spotkała się ze sceptycyzmem. Kontrowersje wywołuje złamanie zasady biologii molekularnej, według której brak kwasu nukleinowego wyklucza zakaźność materiału. Nanobakterie, chociaż według większości badaczy są nieżywe, nadal stanowią ważny cel badań jako czynnik rozwoju niektórych chorób. Są one istotne, aby zrozumieć interakcję między cząstkami organicznymi i nieorganicznymi w organizmie, mogą mieć również udział w regulowaniu poziomu wapnia we krwi.

Wirusy gorączek krwotocznych wśród nowych patogenów wyróżniają się wysoką śmiertelnością. Pierwsze przypadki zachorowań na gorączkę krwotoczną *Ebola* odnotowano w 1976 r. w Zairze, w okolicach Yambuku nad rzeką Ebola, której wirus zawdzięcza swą nazwę. Szczep Zaire wywołał epidemię, która pochłonęła 280 ofiar (spośród 318 chorych). W tym samym roku w Sudanie, w rejonie Nazara i Maridi, *Ebola-Sudan* spowodował śmierć 53% zakażonych. Mimo szerszej wiedzy – nadal zachorowania wiążą się z 50–90% umieralnością. Objawy skazy krwotocznej, gorączki i krwawienia z osłabieniem, uogólnionymi bólami mięśniowymi, pobudzeniem lub apatią pojawiają się również w innych gorączkach krwotocznych wywoływanych przez Inn wirusy rodziny *Filoviridae* (g. *Marburg*) czy *Flaviviridae* (żółta febra, gorączka Denga, omska gorączka krwotoczna, choroba lasu Kyasanur, gorączka Zachodniego Nilu), *Arenaviridae* (gorączka Lassa, argentyńska gorączka krwotoczna, boliwijska gorączka krwotoczna, wenezuelska gorączka krwotoczna, brazylijska gorączka krwotoczna), *Bunyaviridae* (Gorączka doliny Rift, gorączka Krym-Kongo, gorączka krwotoczna Hanta) lub *Togaviridae* (gorączka Chikungunya), a dostępna terapia koncentruje się, z powodu braku skutecznych preparatów przeciwwirusowych, na postępowaniu objawowym.



## Powracające choroby zakaźne

Według Światowej Organizacji Zdrowia gruźlica stanowi dziś najczęstsze po HIV zakażenie, a rocznie odnotowuje się na świecie 8–9 mln nowych zachorowań. Zakażenie prątkami gruźlicy odpowiada 33% zgonów z przyczyn zakaźnych na świecie (1,8 mln rocznie, w tym 456 tys. HIV+). Wśród chorych w Europie 15% jest współzakażonych HIV. Odsetek ten w odniesieniu do Afryki subsaharyjskiej sięga 80% u dorosłych i 40% u dzieci. W Polsce w 2008 r. stwierdzono 188 przypadków oporności na 1 lek przeciwprątkowy i 55 przypadków gruźlicy wielolekoopornej oraz gruźlicy o rozszerzonym spektrum oporności (XRD-TB), która wiąże się z umieralnością 40–60%.

Aktualnym problemem w praktyce lekarzy rodzinnych, reumatologów i specjalistów chorób zakaźnych stanowią choroby odkleszczowe, takie jak borelioza, kleszczowe zapalenie mózgu, babeszjoza, anaplazmoza, erlichioza, kleszczowa gorączka Kolorado, gorączka plamista Gór Skalistych. Szczególne trudności wydają się stwarzać racjonalna diagnostyka, różnicowanie i kwalifikacja do leczenia przeciwbakteryjnego w przypadku boreliozy. Mimo określonych procedur sanitarnych pytanie dotyczące bezpieczeństwa spożywanego mięsa pozostaje wciąż otwarte. W 2009 r. w Polsce odnotowano 17 przypadków encefalopatii gąbczastej, 36 przypadków włośnicy i 2 przypadki wągrycy. Z raportów Głównego Urzędu Statystycznego wynika, że rocznie 5,5 mln krów, świń, cieląt i owiec trafia na rynek bez odpowiednich badań Inspekcji Weterynaryjnej.

## Zakażenia w immunosupresji

Coraz liczniejszą grupę pacjentów stanowią osoby w immunosupresji, jatrogennej lub w przebiegu zakażenia ludzkim wirusem nabytego niedoboru odporności. W Polsce w 2005 r. przeprowadzono 1349 przeszczepów narządów twardych i 379 przeszczepów komórek hematopoetycznych. Wszyscy ci chorzy wymagają leczenia upośledzającego funkcjonowanie układu odpornościowego. Przewlekłej immunosupresji wymagają również pacjenci z chorobami z autoagresji, którzy stanowią około 3% polskiej populacji. Wyzwanie terapeutyczne stanowią wzrastająca liczba noworodków o urodzeniowej masie ciała poniżej 2500 g, która w Polsce w 2009 r. liczyła ok. 6% z 425 tys. żywych urodzeń, oraz starzejąca się populacja. Kolejną grupą narażonych w sposób szczególny na zakażenia są pacjenci z chorobami onkologicznymi, których przybywa ok. 133 tysięcy rocznie i chorzy hospitalizowani przewlekle na oddziałach intensywnej terapii.

Zakażenia oportunistyczne obserwowane w praktyce klinicznej stwarzają trudności w interpretacji badań diagnostycznych w różnicowaniu kolonizacji i zakażenia, często również ograniczona jest przydatność powszechnie stosowanych testów w monitorowaniu skuteczności leczenia. Do najczęściej diagnozowanych zakażeń oportunistycznych należą zakażenia wirusowe wywołane wirusem cytomegalii, opryszczki zwykłej, ospy wietrznej i półpaśca, wirusem JC i BK oraz zakażenia pierwotniakami (*Toxoplasma gondii*, *Toxocara cati* i *T. canis*, *Cryptosporidium parvum*, *Microsporidium spp.*) i grzybicze (*Pneumocystis jiroveci*).

Od identyfikacji pierwszych zakażeń HIV na Haiti mija 30 lat. W Polsce, po 25 latach trwania epidemii, liczba osób zdiagnozowanych żyjących z HIV/AIDS sięga dziś 13 tysięcy. Wyzwanie dla diagnostów i klinicystów stanowi nie tylko rozpoznanie i monitorowanie terapii zakażeń oportunistycznych, ale również interpretacji zaburzeń pojawiających się w trakcie leczenia przeciwwirusowego, związanych z zespołem immunorekonstrukcji.

## Zakażenia szpitalne

Zakażenia szpitalne stawiają przed systemem opieki zdrowotnej szereg nowych wyzwań. Wobec występowania ALERT patogenów nadrzędnym celem staje się wprowadzenie programów racjonalnej antybiotykoterapii w leczeniu ludzi z równoczesnym ograniczeniem niekontrolowanego dziś dostatecznie zużycia antybiotyków na rynku weterynaryjnym i w hodowlach zwierząt. Brak restrykcji związanych ze wskazaniami do podejmowania antybiotykoterapii oraz charakterystyka przewlekle chorych ze wskazaniami do leczenia przeciwbakteryjnego doprowadziły do powstania szczepów wielolekoopornych, takich jak szczepy wytwarzające metalo-betalaktamazę wariant New Delhi (New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase 1, NDM-1) czy szczepy wytwarzają-





ce kabrapenemazę KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*) [1]. Ważnym epidemiologicznie zjawiskiem jest pojawienie się szczepów wielolekoopornych poza środowiskiem szpitalnym.

Zakażenia wirusami krwiopochodnymi, w tym wirusami zapalenia wątroby typu Bi C, wciąż wiązane są z kontaktem ze służbą zdrowia. Do około 50% zakażeń HBV dochodzi w związku z procedurami medycznymi, blisko 15% osób dializowanych zakażonych jest HCV i wciąż trudno wytłumaczyć wysoki odsetek zakażeń HCV wśród honorowych dawców krwi oddających krew w latach 70.–90.

## Era szczepień

Programy eliminacji i eradykacji chorób zakaźnych prowadzone pod patronatem Światowej Organizacji Zdrowia i rządów krajów doprowadziły do skutecznej eradykacji tylko jednej choroby. W 1975 r. w Bangladeszu odnotowano ostatni przypadek ospy prawdziwej (*Variola major*) u Rahimy Banu, 3-letniej dziewczynki. Co wobec tego stanowi dobrodziejstwo naszych czasów? Czy zarzuty dotyczące „przeciążenia dla układu odpornościowego” przeciwników szczepień są słuszne? Obiektywnie, niekorzystne w polityce szczepień są wygasanie odporności poszczepiennej oraz wygasanie naturalnej odporności populacyjnej. Również ciężkie zdarzenia niepożądane u szczepionych dzieci występują rzadko. Powyższe zjawiska można jednak w istotnym stopniu kontrolować, prowadząc zindywidualizowane, racjonalne programy szczepień obowiązkowych i dodatkowych. Niefortunne publikacje podważające bezpieczeństwo szczepień wydają się być jednak niejednokrotnie skuteczniejsze niż edukacja lekarzy i pacjentów. Skuteczność szczepionek przeciw *Neisseria meningitidis* oraz *Haemophilus influenzae*, które ograniczają częstość ropnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i związanego z nim ryzyka zgonu u 10–50% i ryzyka trwałych deficytów neurologicznych u 20%, stanowi dowód na korzyść profilaktyki ww. zakażeń. Jednakże, jak celnie stwierdził pan profesor Andrzej Zieliński z Zakładu Epidemiologii Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego PZH, matki które obecnie rzadko mają do czynienia z chorobami zakaźnymi o ciężkim przebiegu u swoich dzieci, wydają się nie doceniać dostępności szczepień.

## Podsumowanie

Współczesna sytuacja epidemiologiczna i przewidywany jej rozwój nakazują zainteresować się nowymi kierunkami w chorobach zakaźnych u ludzi. Są to: choroby odzwierzęce, zakażenia szpitalne, zakażenia w immunosupresji, HIV/AIDS, medycyna podróży i problem krajów niedofinansowanych („ginąca Afryka”), oporność na antybiotyki (zmierzch ery antybiotyków) i bioterroryzmu.

## Piśmiennictwo:

- [1] Kumarasamy K.K., Toleman M.A., Walsh T., 2010. Emergence of a New antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect. Dis.*, 10, 567–602.
- [2] Murray C.J.L., Lopez A.D., 1996. *The global burden of disease: a comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020*. Cambridge, MA: Harvard University Press.
- [3] Prusiner S.B., 1982. Novel proteinaceous infectious particles causa scrapie. *Science*, 216: 4542, 136–144.
- [4] Woods J.B. (ed), *USAMRIID's Medical Management of Biological Casualties Handbook (6<sup>th</sup> ed.)*. U.S. Army Medical Institute of Infectious Diseases, Fort Detrick, Maryland, 2005, 143–144
- [5] Yigit H., Queenan A.M., Anderson G.J., 2001. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 45:4, 1151–1161.
- [6] Young J., Martel J., 2010. The rise and fall of Nanobacteria. *Scient. Am.*, 302:1, 52–59.



## PERSPEKTYWY WSPÓŁCZESNEJ CHEMIOTERAPII PRZECIWBAKTERYJNEJ U ZWIERZĄT

### CONTEMPORARY PERSPECTIVES FOR ANIMAL ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY

Marcin Światała

Wieloletnia praktyka stosowania chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych w leczeniu człowieka i zwierząt przyzwyczała ordynujących je lekarzy do sukcesów terapeutycznych. Leki te początkowo używane w ściśle zdefiniowanych jednostkach chorobowych pochodzenia bakteryjnego zaczęły z czasem służyć jako środki profilaktyczne, stosowane rutynowo w sytuacjach diagnostycznie wątpliwych w celu zmniejszenia ryzyka tzw. powikłań bakteryjnych. Stałe rozszerzanie ich zastosowań w różnych specjalnościach medycznych, a także w hodowli zwierząt, rolnictwie czy przemyśle możliwe było dzięki burzliwemu rozwojowi odpowiedniej branży przemysłu farmaceutycznego poszukującej nowych antybiotyków i syntetyzującej ich pochodne, co z kolei przyczyniło się do powstania sprawnie funkcjonującej sieci dystrybucyjnej tych leków. Sytuacja taka doprowadziła do niezasadnie dużego i niewłaściwego wykorzystywania chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych, czego efektem było pojawienie się drobnoustrojów, które dysponują coraz to bardziej sprawnymi mechanizmami lekooporności. Rozwój oporności był od lat przedmiotem zainteresowań środowisk naukowych, które od dziesięcioleci tłumacząc jej naturę i przyczyny, bezskutecznie domagały się ograniczenia skali wykorzystywania chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych do umotywowanych racjonalnie zastosowań terapeutycznych. W obecnych czasach najbardziej dramatycznym skutkiem tego zjawiska jest coroczna utrata setek tysięcy istnień ludzkich, których nie udaje się wyleczyć z zakażeń wywołanych przez bakterie odporne na prawie wszystkie chemioterapeutyki. Do zakażeń tych dochodzi najczęściej w placówkach służby zdrowia. Problem antybiotykooporności zyskał obecnie wymiar społecznie globalny, gdyż podnoszony jest w aktach wielu organizacji międzynarodowych, rządów wielu krajów i ich agend, a także organizacji społecznych i korporacji biznesowych. Akty te mają charakter intencjonalny, wielowątkowy, niestety często chaotyczny i napisane są trudnym w odbiorze językiem urzędowym. Ich głównym celem jest ustanowienie lub usprawnienie funkcjonowania wielopoziomowego systemu zbierania danych dotyczących zużycia chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych i opis stanu lekooporności drobnoustrojów, które pozwoliłyby na szczegółowe poznanie problemu i wygenerowanie zarządzeń ograniczających zużycie. Wychodzi się bowiem z założenia, że istnieje prosty związek pomiędzy wzrostem zużycia a powstawaniem lekooporności. Innym bardzo silnie podkreślanym wątkiem jest podjęcie inicjatyw mających na celu podniesienie wiedzy lekarzy, kadry zarządzającej, a także opinii publicznej dotyczącej konsekwencji wynikających z niekontrolowanego stosowania leków przeciwbakteryjnych oraz sposobów zapobiegania lekooporności. Dostrzega się w nich również znaczenie medycyny weterynaryjnej. Problemy związane z chemioterapią przeciwbakteryjną w Polsce były przedmiotem konferencji naukowej zorganizowanej w 2012 r. przez Państwowy Instytut Weterynarii w Puławach pt. „Farmacja weterynaryjna w Polsce – racjonalne stosowanie antybiotyków – nauka i praktyka”. Wiele interesujących danych znaleźć można w przekrojowej pracy A. Dzierżawskiego i W. Cybulskiego pt. „Potrzeba racjonalnego stosowania antybiotyków w praktyce weterynaryjnej”, opublikowanej tuż przed konferencją w „Życiu Weterynaryjnym” (2012, 87, 316.)

Jako farmakolog uważam, że najistotniejszym elementem oceny perspektywy dla współczesnej chemioterapii przeciwbakteryjnej w weterynarii jest postęp naukowy, jaki w tym zakresie obecnie się dokonuje, a zwłaszcza to co oferuje on lekarzowi-terapeucie. W drugiej połowie ubiegłego wieku motorem tego postępu były głównie nauki farmaceutyczne dokonujące odkryć nowych antybiotyków oraz syntez ich pochodnych. W pierwszym dziesięcioleciu obecnego wieku liczba wprowadzanych do leczenia chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych znacznie zmalała. Obecnie powinny zatem trwać prace nad zwiększeniem skuteczności już dostępnych leków z równoczesnym poszukiwaniem sposobów ograniczania powstawania oporności u patogennych bakterii. Jak się wydaje, ze strony farmakologii weterynaryjnej, za tego rodzaju prace można uznać badania nad chemioterapią przeciwbakteryjną opartą na wskaźnikach farmakokinetycznych i farmakodynamicznych (PK/PD).



Jak wiadomo, od lat kluczową rolę w racjonalnie prowadzonej chemioterapii przeciwbakteryjnej odgrywa wybór leku oparty na mikrobiologicznym określeniu patogenu wraz z jego wrażliwością na dostępne chemioterapeutyki, a następnie odpowiednie dobranie dawki i sposobu jej podawania. Obecnie niekwestionowanym standardem w określeniu wrażliwości patogenu na lek powinno być ustalenie minimalnego stężenia hamującego (MIC). MIC jest nośnikiem informacji liczbowej, którą można archiwizować i wykorzystywać do określenia sytuacji epidemiologicznej, wyliczając wartości populacyjne tego wskaźnika jako tzw. MIC<sub>50</sub> lub MIC<sub>90</sub>. Wartość ta traktowana jest także jako wskaźnik farmakodynamiczny charakteryzujący efekt działania leku. Jest zatem czynnikiem niezbędnym do określania dawkowania leku w terapii typu PK/PD. Tego rodzaju kalkulowanie dawkowania dla wielu grup leków jest dzisiaj powszechnie przyjętą praktyką i z reguły poprzedza ustalenie dawki przed wprowadzeniem leku na rynek. W przypadku chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych wskaźnik MIC podlega dużym zmianom i dlatego lekarz powinien mieć szansę na korektę dawkowania, zwłaszcza zmniejszenia dawki leku w sytuacji stwierdzenia dużej wrażliwości patogenu (przy niskiej wartości MIC). Może to znacznie ograniczyć ilość stosowanego leku. Dysponujemy dziś wiedzą, która powala na tak racjonalne podejście do antybiotykoterapii. Wiemy, że mimo iż mechanizmy bakteriobójczego lub bakteriostatycznego działania chemioterapeutyków są wysoce zróżnicowane, to zasadniczą cechą na podstawie której można skorygować dawkowanie, jest zależność ich skuteczności albo od wartości osiąganego w płynach ustrojowych stężenia, albo od długości okresu skutecznej ekspozycji na lek.

Pozwoliło to podzielić chemioterapeutyki przeciwbakteryjne na 2 grupy: stężeniezależne i czasozależne. Do pierwszej należą głównie aminoglikozydy, fluorochinolony, nitroimidazole, do drugiej m. in. antybiotyki betalaktamowe, większość makrolidów, linkosamidy, tetracykliny czy sulfonamidy. Korekta dawkowania obu tych grup leków opiera się na wykorzystaniu różnego typu wzorów.

W przypadku leków stężeniezależnych dawkowanie powinno uwzględnić osiągnięcie przez lek odpowiednio wysokiego stężenia, które w stosunkowo krótkim czasie wyeliminuje większość komórek patogenu. Formalnie powinno ono zapewnić przekroczenie założonych wartości dwóch wskaźników PK/PD, a mianowicie C<sub>max</sub>/MIC (np. dla aminoglikozydów <10) lub AUC<sub>24</sub>/MIC (np. dla fluorochinolonów <125 godz.) C<sub>max</sub>, czyli najwyższe stężenie osiągnięte przez lek w osoczu oraz AUC<sub>24</sub>, czyli pole pod krzywą wykreśloną przez wartości stężenia leku mierzone w kilku punktach czasowych w okresie jednej doby, to oczywiście wskaźniki farmakokinetyczne charakteryzujące zachowanie się leku w organizmie. Wartości graniczne dla wskaźników PK/PD i AUC<sub>24</sub> zapewniające pełną skuteczność działania wybranych leków wyznaczono doświadczalnie na zakażonych zwierzętach laboratoryjnych. Można dodać, że po zastosowaniu leków stężeniezależnych występuje długi okres (<6 godz.) tzw. efektu poantybiotykowego (PAE). Najogólniej jest to okres, po którym komórki bakteryjne, które przetrwały ekspozycję na terapeutyczne stężenia antybiotyku, podejmą funkcje podziałowe.

Jeżeli chodzi o chemioterapeutyki czasozależne, dawkowanie powinno zapewnić utrzymanie się odpowiednio skutecznego stężenia leku w okresie niezbędnym do wyeliminowania większości komórek patogenego drobnoustroju. Czas ten w przypadku takich antybiotyków bakteriobójczych jak beta-laktamy konieczny jest do wejścia większości komórek bakteryjnych w fazę podziałową, podczas której leki te mogą działać antybiotycznie, natomiast przy lekach bakteriostatycznych jest on prawdopodobnie potrzebny do wyeliminowania większości zatrzymanych w rozwoju bakterii przez układ odpornościowy gospodarza. Odpowiednio skuteczne stężenie leku to najczęściej czterokrotna wartość MIC, natomiast kluczowy czas utrzymywania się stężenia ponad tę wartość (T>MIC) to w przypadku leków z krótkim efektem poantybiotykowym (antybiotyki beta-laktamowe) ok. 80% doby. W przypadku leków czasozależnych o dłuższym efekcie poantybiotykowym wartość ta może obejmować tylko 40% doby, ale najczęściej wykazują one skorelowanie z wartością wskaźnika AUC<sub>24</sub>/MIC (<100 godz.).

Podsumowując, idea prowadzenia chemioterapii przeciwbakteryjnej opartej na wskaźnikach PK/PD polega na skutecznym wykorzystaniu leków w dawkach mniejszych niż proponowane przez producenta i dopasowanych do określonej parametrycznie i fenotypowo wrażliwości na lek (wartość MIC). Przy leczeniu „indywidualnym” zwierząt towarzyszących (psy, koty) dostosowanie dawki można oprzeć na aktualnej wartości MIC wybranego do leczenia antybiotyku. Liczba dostępnych danych farmakokinetycznych, zwłaszcza dla psów, stwarza możliwość opracowania prostego programu do ustalenia optymalnego dawkowania leków przeciwbakteryjnych.

Znacznie trudniej wprowadzić tego typu terapię u zwierząt gospodarskich utrzymywanych w warunkach fermowych ze względu na dużą zmienność wartości wskaźników farmakokinetycznych. Do obliczeń konieczne jest także użycie danych populacyjnych wartości MIC oraz założenie, na jakim poziomie chce się uzyskać skuteczność terapeutyczną mierzoną stopniem eradykacji. Do kalkulacji dawkowania w takich warunkach służą programy obliczeniowe oparte na tzw. symulacji Monte Carlo.

Czy zastosowanie chemioterapii przeciwbakteryjnej opartej na wskaźnikach PK/PD zatrzyma proces narastania lekooporności patogenów, na pewno nie. Pozwoli jednak uchwycić skalę problemu w warunkach lokalnych, znaleźć relacje pomiędzy wdrażaniem zasad dobrej praktyki zwalczania chorób infekcyjnych a kształtowaniem się oporności.

Nie ma jednak wątpliwości, że wykorzystanie tego typu wiedzy stanowiącej wdrożenie wyników wieloletnich badań farmakologicznych uwarunkowane jest powstaniem sieci laboratoriów diagnostyki mikrobiologicznej, przygotowanej do spełniania kluczowej roli w tym zakresie. Laboratoria te powinny być przygotowane do wykonania także badań genetycznych, które mogłyby identyfikować geny oporności, a również geny odpowiedzialne za zjadliwość drobnoustrojów. Tego typu badania pozwalają także na poznanie pochodzenia patogenów. Niezwykle cenne dane umożliwiają określenie mechanizmu oporności, w tym również nośników wielooporności, bardzo groźnych z terapeutycznego punktu widzenia. W odróżnieniu jednak od sytuacji w oddziałach szpitalnych tego typu oporność wśród patogenów zwierzęcych występuje obecnie rzadko. Odpowiednio gęsta sieć takich placówek pozwoliłaby rozstrzygnąć tajemnicę przenoszenia się genów oporności z drobnoustrojów patogennych dla zwierząt na człowieka, zarówno przez bezpośredni kontakt, jak i przez produkty konsumpcyjne, a także może służyć rozpoznaniu ich rozmieszczenia w środowisku.

Czy w Polsce możliwa jest realizacja tego typu programu wymagającego wysiłku inwestycyjnego i edukacyjnego? Niestety, przyglądając się zamierzeniom rządu i jego agend w naszym kraju, trudno być optymistą. Wiele zadań skupionych wokół Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków utworzonego w Polsce w 2004 r., głównie w odpowiedzi na inicjatywy międzynarodowe, wspiera działania sektora związanego z medycyną ludzką. Kilkuletnia praca w tym sektorze przynosi stopniowo wyniki, związane z istotnym ograniczeniem zbędnego zużycia antybiotyków. Podkreśla się także rolę edukacyjną programu, w tym przełamywanie przyzwyczajenia lekarzy, administracji do „wyglądania” danych sprawozdawczych i stopniowy wzrost zrozumienia dla wdrażania nowych rygorystycznych, ale logicznie zaplanowanych procedur, zwłaszcza w zwalczaniu zakażeń drobnoustrojami wieloopornymi. Natomiast założona w Narodowym Programie Ochrony Antybiotyków współpraca ze specjalistami weterynaryjnymi ma raczej charakter symboliczny. Nadzieja, że rozproszony i sprywatyzowany sektor weterynaryjny własnymi siłami doprowadzi do powstania innego niż dotychczas systemu stosowania chemioterapeutyków, jest raczej niewielka. W wielu innych krajach Unii Europejskiej sytuacja jest podobna.

Pozostaje pytanie, jak długo jeszcze możliwe będzie stosowanie chemioterapeutyków w obecnym zakresie i czy widać alternatywne drogi dla terapii przeciwbakteryjnej z chwilą wypadnięcia ich z użycia. Na pewno trudno nie zauważyć roli prowadzonych od lat szczepień profilaktycznych, które przygotowują swoistą odpowiedź immunologiczną organizmu na spotkanie z patogennymi drobnoustrojami, efektywnie likwidując siłami obronnymi gospodarza powstałe zagrożenie. Większość prób wsparcia sił obronnych pacjentów podanych chemioterapii przeciwbakteryjnej przez wykorzystanie immostymulatorów o charakterze nieswoistym, mimo często pozytywnych wyników, nie znajduje siły przebicia w szerokiej praktyce. Świadomość, iż leki te mogą ograniczać niekorzystne wpływy wielu chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych na aktywność obronną sił odpornościowych, jest raczej niewielka. Takie niekorzystne działanie wykazują m.in. aminopenicyliny, cefalosporyny, fluorochinolony, tetracykliny, polimyksyny, aminoglikozydy i inne.

Coraz częściej ukazują się prace wskazujące na możliwość ograniczania zjadliwości drobnoustrojów. Definiowane są czynniki neutralizujące endotoksyny, hamujące produkcję toksyn bakteryjnych, ich uwalnianie, a także reakcje gospodarza. Mogą mieć one charakter przeciwciał, choć znane są również inhibitory ekspresji genów odpowiedzialnych za produkcję toksyn. Określono też czynniki przeciwdziałające aktywności cytolizyn bakteryjnych, a także hamujące powstawanie struktur bakteryjnych umożliwiających adhezję bakterii do powierzchni komórek gospodarza. Znane są również nieswoiste inhibitory procesów namnażania bakterii bytujących wewnątrzkomórkowo. Stopniowy postęp obserwuje się w terapii bakteriofagowej.

Obiecujące wyniki przyniosły też badania nad tworzeniem przez drobnoustroje biofilmu. Struktury te wytwarzane w specyficznych warunkach, przez odpowiednio liczne kolonie, zapewniają ochronę pewnej



części komórek przed wpływem układu immunologicznego gospodarza, a także przed działaniem antybiotyków. Uformowanie biofilmu jest możliwe dzięki wytworzeniu specyficznych substancji sygnałnych, które wykazują zróżnicowanie gatunkowe i umożliwiają powolne przekształcanie części populacji bakteryjnej w formy wolne od struktur, z którymi reagują antybiotyki. Formy te w odróżnieniu od postaci aktywnie opornych wykazują tzw. tolerancję na antybiotyki i w takiej postaci mogą przetrwać chemioterapię. Poznanie inhibitorów czynników sterujących organizowaniem się drobnoustrojów w strukturze biofilmu stwarza nadzieję na poprawę rokowań w takich stanach chorobowych, w których tego typu struktury maskują część populacji bakterii patogennych przed działaniem antybiotyków.

Większość badań nad czynnikami hamującymi zjadliwość wykonano niedawno. Mają one jeszcze charakter wycinkowy i nie wiadomo, kiedy zaowocują powstaniem nowego typu leków przeciwbakteryjnych i ile z tych odkryć trafi do lecznictwa zwierząt. Póki co stopniowe i stałe narastanie oporności bakteryjnej na chemioterapeutyki stosowane w leczeniu infekcji bakteryjnych jest faktem. Jest ono silnie związane z popełnianiem przez lekarzy weterynarii od lat tych samych błędów przy stosowaniu tych leków. Ceną może być nie tylko utrata wielu wartościowych leków przeciwbakteryjnych, ale również zagrożenie własnego życia przez zakażenia wieloopornymi patogenami pochodzącymi od zwierząt.





## ZWIĄZEK: CZŁOWIEK-PIES – KTO KORZYSTA OD KOGO?

### RELATIONSHIP: THE MAN–THE DOG – WHO BENEFITS FROM WHOM?

Ingo Nolte

Od więcej niż 12 000 lat człowiek i pies tworzą zażyłe partnerstwo. To współżycie obu gatunków zmieniło się w minionych stuleciach i tysiącletniach. Szczególnie widoczna staje się ta przemiana przy spojrzeniu na zakres zadań i działań psa oraz człowieka na przestrzeni czasu. Wraz z rozwojem człowieka od jaskiniowca do nowoczesnego *homo sapiens* pies odbył rozwój od zwierzęcia użytkowego, podwórkowego, ochronnego do towarzysza i partnera nowoczesnego człowieka. Poza jego pierwotnymi funkcjami zyskuje na szczególnym znaczeniu współżycie dzieci z psami w ich rozwoju. Ponadto towarzystwo psów oznacza dla starszych osób polepszenie jakości ich życia. Obok czysto socjalnego partnerstwa istnieją zadziwiające podobieństwa między człowiekiem a psem w objawianiu się zachowań spowodowanych środowiskiem i dziedzicznością.

Na podstawie wielu wspólnych cech człowieka i psa okazuje się pies jako idealny model do badań zachowań, które u obu gatunków w tym samym stopniu się rozwijają. Ponadto w międzyczasie poprzez porównywalne diagnostyczne, terapeutyczne możliwości w medycynie ludzkiej i zwierzęcej jak i poprzez dużą gotowość właścicieli dopuszczania swoich psów do klinicznych studiów stało się możliwe przeprowadzenie obszernych badań na psie, tak aby z tych wyników pozyskać także wyniki analiz dla medycyny ludzkiej. Przy bliższych obserwacjach ukazują się paralele między psem a człowiekiem, co dotyczy występowania i patogeny licznych zachorowań, przy czym ujawnia się wiele tak zwanych chorób cywilizacyjnych. Na pierwszym miejscu zachorowań ze skutkami śmiertelnymi znajdują się zarówno u psów, jak i u ludzi choroby serca, ciśnienia oraz choroby nowotworowe. Ale także inne choroby cywilizacyjne, jak spowodowana starością utrata słuchu, otyłość, degeneracyjne choroby stawów, alergie żywnościowe, zaburzenia endokrynne (wewnątrzwydzielnicze), cukrzyca występują w podobnej liczbie jak u człowieka.

W minionych tysiącletniach głównie pies skorzystał z medycznych osiągnięć ludzkiej medycyny, tak więc aktualne projekty badawcze małych zwierząt są skierowane z korzyścią dla psa i człowieka.

3-15 IX 2012



WYDZIAŁ MEDYCYNY  
WETERYNARYJNEJ  
we Wrocławiu



KONGRES  
PTNW

SEKCJE KONGRESU





**SEKCJA  
DOBROSTANU ZWIERZĄT  
I HIGIENY ŚRODOWISKA**





## BEHAVIORALNE WSKAŹNIKI DOBROSTANU ZWIERZĄT

### BEHAVIORAL INDICES OF ANIMAL WELFARE

Tadeusz Jezierski

*Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Zakład Zachowania się Zwierząt, Jastrzębiec, 05-552 Magdalena, e-mail: t.jezierski@ighz.pl*

Dobrostan zwierzęcia oznacza, że jest ono zdrowe i spełnione są wszystkie potrzeby fizyczne oraz psychiczne zwierzęcia. Zachowanie się zwierząt jest ważnym i stosunkowo łatwym do zaobserwowania lub zmierzenia wskaźnikiem dobrostanu, dostarczającym istotnych informacji o preferencjach zwierząt, ich potrzebach, motywacji i stanie psychicznym, np. emocjach, lęku, zadowolenia. Oznaką zdrowia jest m.in. brak tzw. zachowań chorobowych (apatia, zmniejszona ruchliwość, zanik lub zmniejszone pobieranie pokarmu), które są dobrze znanymi ogólnymi przejawami stanu patologicznego. Niektóre specyficzne zachowania pozwalają na dokładniejsze zdiagnozowanie poszczególnych schorzeń lub urazów. Spełnienie albo niespełnienie potrzeb fizycznych i psychicznych są również sygnalizowane przez zwierzę wykonywaniem lub zaniechaniem wykonywania określonych przejawów zachowania się. Jednym ze sposobów określania dobrostanu jest ilościowe i jakościowe porównanie zachowania się zwierząt w danym sposobie utrzymania i w warunkach zbliżonych do naturalnych. Należy przy tym brać pod uwagę gatunkowe, międzyrasowe i indywidualne różnice w zachowaniu się zwierząt, efekty selekcji genetycznej, możliwość adaptacji behawioralnej oraz to, czy dane zachowanie występujące w naturze, a niemożliwe do wykonania w warunkach chowu, ma duże czy marginalne znaczenie dla dobrostanu zwierząt, tj. czy u zwierząt występuje duża czy mała motywacja do wykonania tych zachowań. Niektóre specyficzne rodzaje zachowań, zwłaszcza stereotypie lokomotoryczne lub oralne oraz zachowania samouszkodzające, są przejawami obniżonego dobrostanu powstającymi wskutek frustracji zwierzęcia wobec niemożności wykonywania naturalnych zachowań lokomotorycznych, pokarmowych, socjalnych i innych. Stres socjalny będący jednym z czynników obniżających dobrostan zwierząt może być wynikiem zarówno izolacji socjalnej, szczególnie u zwierząt stadnych, jak i procesu ustalania hierarchii socjalnej w grupach zwierząt, zwłaszcza umieszczonych na zbyt małej lub nieodpowiednio ukształtowanej powierzchni, niedającej osobnikom o niskim statusie społecznym możliwości wycofania się i schronienia. Bardziej zaawansowane metody badania behawioralnych wskaźników dobrostanu polegają na określaniu behawioralnych i fizjologicznych wskaźników stresu, określaniu preferencji zwierząt w tzw. testach wyboru oraz mierzeniu motywacji zwierząt do wykonywania zachowań polepszających komfort fizyczny lub psychiczny z zastosowaniem metody warunkowania instrumentalnego. Współczesne elektroniczne metody rejestracji i monitorowania zachowania się zwierząt systemem ciągłym (np. kamery TV, cyfrowa analiza obrazu, czujniki podczerwieni) oraz komputerowa analiza wyników dają możliwość szerokiego zastosowania zachowania się zwierząt do obiektywnej oceny dobrostanu zarówno na poziomie indywidualnego zwierzęcia, stada lub grupy zwierząt, jak i fermy zwierzęcej.

#### **Piśmiennictwo:**

[1] Appleby M.C., Hughes B.O. (Eds), 1997. Animal Welfare. CAB International, Wallingford, UK.

**ON-FARM ANIMAL WELFARE: FROM CONCEPT TO PRACTICE****DOBROSTAN ZWIERZĄT W GOSPODARSTWIE: OD KONCEPCJI DO ROZWIĄZAŃ PRAKTYCZNYCH****Joanna Marchewka**

*Department of Animal Production, NeikerTecnalia, ArkauteAgrifood Campus, Vitoria-GasteizE-01080, Spain  
e-mail: jmarchewka@neiker.net*

Animal welfare assessment is multidisciplinary as it involves a combination of knowledge from different fields such as ethology, physiology, and ethics. Also notions in economy and management and to some extent public relations can be beneficial. Animal welfare science aims at defining, assessing and providing the tools for the adjustment of the conditions in which animals are maintained in order to satisfy their biological needs. Poor welfare is a major concern in modern farming due to the clear negative effects on health, to the potential negative effects in terms of the behavioural restriction that rearing conditions may impose to the animals. However, it is often ignored that welfare problems also translate in economic losses due to impaired growth, reduced product quality, or reproductive performance.

Better animal welfare can be achieved by developing methods for a reliable evaluation of the herd, flock or individuals (animal based measurements) or by paying attention to the factors influencing their condition directly as in the resource based approach (environment, management, etc.). To the potentially usefully animal welfare measures include behavioral parameters (activity, vocalization, movement patterns, etc.) or physiological (cytokines, non-invasively obtained cortisol from feather, hair or saliva, etc.). Traditionally a wide range of measures should be evaluated over a long period of time, for almost exact and meaningful welfare assessment. However, on-farm evaluation must be practical, understandable for the producers and cost efficient. Currently, special attention is paid also to indicators of pain, so that situations that produce a painful condition to animals can be recognized and remediated as much as possible.

Defining the set of indicators that best allow assessing the particular on farm welfare situation for a given species is, perhaps the first step towards achieving animal welfare improvement. If this message is spread to industry it should be clear and practical. The methods of improvement should be simple, understandable and practical. An example of simple methods that can be applied to improve both animal welfare and performance is the improvement of the space use in poultry achieved by use of simple devices like panels. Farmers need a step by step approach to the application of methods for animal welfare improvements suggested by the research outcomes, which allows them continuous adjustments to the market. This is more an evolutionary process rather than revolutionary one which characterizes changes enforced by the legislation requirements - for example. Those procedures are usually very expensive, take long time to be applied, are not flexible and differ in required efforts between countries, for example within EU.

Animal welfare scientists from different countries are currently working on the development, integration and dissemination of practical animal welfare indicators in such species as turkey, sheep, goats, donkeys and horses. Previously attention has been paid to such species as cattle, swine and poultry. The overall aim of scientific work in area of animal welfare should be however to create the bridge between farmers, consumers and legislators. An excellent example of creating described above knowledge source is a global hub for research and education in animal welfare, which is one of the aims of AWIN (Animal Welfare Indicators) project that will integrate past, present and future research and teaching materials. It aims to be a "one-stop-shop" for information on animal welfare education worldwide.



## NADZÓR NAD PRZESTRZEGANIEM PRZEPISÓW O OCHRONIE ZWIERZĄT W PODMIOTACH PROWADZĄCYCH DZIAŁALNOŚĆ NADZOROWANĄ PRZEZ INSPEKCJĘ WETERYNARYJNĄ

### CONTROL OVER COMPLIANCE WITH ANIMAL WELFARE REGULATION IN ENTITIES SUPERVISED BY THE VETERINARY INSPECTION

Janusz Związek

Główny Lekarz Weterynarii, Główny Inspektorat Weterynarii, ul. Wspólna 30, 00-930 Warszawa,  
e-mail: janusz.zwiazek@wetgiw.gov.pl

Zgodnie z ustawą z dnia 21 sierpnia 1997 r. o ochronie zwierząt Inspekcja Weterynaryjna jest powołana do sprawowania nadzoru nad przestrzeganiem przepisów o ochronie zwierząt.

Jednym z elementów realizacji powyższego zadania jest prowadzenie nadzoru w zakresie ochrony zwierząt w podmiotach prowadzących działalność nadzorowaną, w rozumieniu ustawy z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, tj.:

- w gospodarstwach,
- w transporcie,
- podczas uboju zwierząt rzeźnych,
- w schroniskach dla bezdomnych zwierząt,
- w jednostkach doświadczalnych, jednostkach hodowlanych i u dostawców.

Nadzór nad właściwym utrzymaniem zwierząt gospodarskich prowadzony jest na podstawie przepisów ustawy o ochronie zwierząt oraz wydanych do niej rozporządzeń Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi:

- z dnia 15 lutego 2010 r. w sprawie wymagań i sposobu postępowania przy utrzymywaniu gatunków zwierząt gospodarskich, dla których normy ochrony zostały określone w przepisach Unii Europejskiej;
- z dnia 28 czerwca 2010 r. w sprawie minimalnych warunków utrzymywania gatunków zwierząt gospodarskich innych niż te, dla których normy ochrony zostały określone w przepisach Unii Europejskiej.

W celu ujednocnienia postępowania powiatowych lekarzy weterynarii, Główny Lekarz Weterynarii wydał instrukcję Nr GIWz.400/AW-46/2010 z dnia 23 sierpnia 2010 r. dotyczącą postępowania przy przeprowadzaniu kontroli gospodarstw utrzymujących zwierzęta pod względem dobrostanu zwierząt. Zgodnie z tą instrukcją powiatowi lekarze weterynarii mają obowiązek przeprowadzenia kontroli 5% gospodarstw utrzymujących zwierzęta gospodarskie. Kontrola obejmuje wszystkie aspekty, o których mowa w powyższych aktach prawnych:

- opiekę i kontrolę właściciela;
- karmienie i pojenie zwierząt;
- warunki utrzymania:
  - ✓ dostępną powierzchnię,
  - ✓ pomieszczenia i sprzęt,
  - ✓ warunki środowiskowe,
  - ✓ procedury hodowlane,
  - ✓ przemieszczanie zwierząt;
- dokumentację leczenia oraz hodowlaną;
- rejestry upadków.

Wyżej wymieniona instrukcja zawiera wytyczne dla powiatowych lekarzy weterynarii w zakresie prowadzenia kontroli oraz wzory list kontrolnych SPIWET, na których dokumentowane są przeprowadzone kontrole.

Kolejnym rodzajem działalności nadzorowanej, która podlega szczególnej kontroli Inspekcji Weterynaryjnej pod względem przepisów o ochronie zwierząt, jest przewóz zwierząt. Przepisy będące podstawą do ww.



nadzoru to przepisy ustawy o ochronie zwierząt oraz rozporządzenia Rady (WE) nr 1/2005 w sprawie ochrony zwierząt podczas transportu i związanych z tym działań oraz zmieniające dyrektywy 64/432/EWG i 93/119/WE oraz rozporządzenie (WE) nr 1255/97.

Na nadzór dotyczący dobrostanu zwierząt podczas transportu składają się:

- kontrola dokumentów oraz środków transportu w związku z wydaniem zezwolenia dla przewoźnika;
- kontrola przewoźników;
- kontrola warunku przewozu zwierząt, w zakresie:
  - ✓ kontroli środków transportu, w tym warunków transportu,
  - ✓ kontroli załadunku i wyładunku zwierząt,
  - ✓ kontroli gęstości załadunku zwierząt,
  - ✓ kontroli czasu transportu zwierząt,
  - ✓ kontroli stanu zwierząt transportowanych lub przeznaczonych do transportu,
  - ✓ kontroli dokumentacji związanej z przewozem zwierząt.

Główny Lekarz Weterynarii wydał instrukcję Nr GIWz. 420/AW-62/11 z dnia 7 października 2011 r. dotyczącą zatwierdzania i kontroli przewoźników oraz przeprowadzaniu kontroli wykonywania transportu drogowego zwierząt pod względem ich dobrostanu, która zawiera wytyczne dotyczące zakresu i sposobu wykonywania kontroli oraz wzory protokołów kontroli.

Niezwykle istotny jest nadzór nad przestrzeganiem przepisów o ochronie zwierząt podczas uboju. Jest on prowadzony na podstawie przepisów ustawy o ochronie zwierząt oraz rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 9 września 2004 r. w sprawie kwalifikacji osób uprawnionych do zawodowego uboju oraz warunków i metod uboju i uśmiercania zwierząt.

Zakres kontroli prowadzonych w rzeźniach obejmuje:

- transport zwierząt przywożonych do rzeźni:
  - ✓ warunki transportu,
  - ✓ stan ogólny zwierząt,
  - ✓ czas podróży,
  - ✓ dokumentacja towarzysząca przesyłce;
- przemieszczanie zwierząt na terenie rzeźni;
- przetrzymywanie zwierząt na terenie rzeźni;
- ubój zwierząt.

Mając na względzie konieczność ujednolicenia postępowania powiatowych lekarzy weterynarii podczas ww. kontroli, Główny Lekarz Weterynarii wydał instrukcję Nr GIWz.420/AW-1/10 z dnia 12 stycznia 2010 r. dotyczącą postępowania przy przeprowadzaniu kontroli w rzeźniach pod względem dobrostanu zwierząt, która zawiera wytyczne dotyczące sposobów kontroli oraz wzory protokołów kontroli.

Podmiotami nadzorowanymi, w których także prowadzona jest kontrola przestrzegania przepisów o ochronie zwierząt, są schroniska dla bezdomnych zwierząt. Powyższe kontrole w schroniskach odbywają się na podstawie ogólnych przepisów ustawy o ochronie zwierząt. Wymagania określone dla schronisk w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 23 czerwca 2004 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych dla prowadzenia schronisk dla zwierząt, nie dotyczą bezpośrednio dobrostanu zwierząt, lecz wymagań weterynaryjnych.

Główny Lekarz Weterynarii wydał instrukcję Nr GIWz.420/AW-32/11 z dnia 20 maja 2011 r. w sprawie postępowania powiatowych lekarzy weterynarii przy przeprowadzaniu kontroli schronisk dla zwierząt, w której przedstawił wytyczne dla takich kontroli, ze szczególnym uwzględnieniem kontroli dobrostanu.

Nadzór nad przepisami dotyczącymi warunków utrzymania zwierząt laboratoryjnych i doświadczalnych w jednostkach doświadczalnych, jednostkach hodowlanych jest prowadzony na podstawie przepisów ustawy z dnia 21 stycznia 2005 r. o doświadczeniach na zwierzętach oraz wydanych do niej rozporządzeń Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi:

- z dnia 10 marca 2006 r. w sprawie szczegółowych warunków utrzymywania zwierząt laboratoryjnych w jednostkach doświadczalnych, jednostkach hodowlanych i u dostawców;
- z dnia 20 czerwca 2007 r. w sprawie kwalifikacji osób sprawujących opiekę nad zwierzętami doświadczalnymi i osób sprawujących nadzór nad tymi osobami;
- z dnia 13 maja 2005 r. w sprawie znakowania psów, kotów i zwierząt naczelnych.



Kompetencje w zakresie nadzoru nad ochroną zwierząt doświadczalnych Inspekcja Weterynaryjna dzieli z lokalnymi komisjami etycznymi. Nadzór Inspekcji Weterynaryjnej dotyczy warunków utrzymania zwierząt oraz wymaganej przepisami dokumentacji, natomiast lokalne komisje etyczne prowadzą kontrole dotyczące ochrony zwierząt w trakcie przeprowadzanych doświadczeń.

Jak wspomniano na wstępie, Inspekcja Weterynaryjna prowadzi nadzór nad przestrzeganiem całości przepisów ustawy o ochronie zwierząt, tak więc należy pamiętać, iż nadzór prowadzony w podmiotach prowadzących działalność nadzorowaną stanowi znaczną, lecz nie jedyną część zadań Inspekcji Weterynaryjnej związanych z ochroną zwierząt.

**ADAPTACJA KONI DO WYSIŁKU TRENINGOWEGO MIERNIKIEM DOBROSTANU****ADAPTATION TO EXERCISE IN TRAINING HORSES AS A WELFARE MEASURE****Hanna Bis-Wencel<sup>1</sup>, Monika Bryl<sup>1</sup>, Agnieszka Rowicka<sup>1</sup>, Kamila Klimek<sup>2</sup>**

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, <sup>1</sup>Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, <sup>2</sup>Katedra Zastosowań Matematyki i Informatyki. Akademicka 13, Lublin, e-mail: hanna.biswencel@up.lublin.pl

**Wstęp:** Zapewnienie dobrostanu koni jest wyrazem zasad prawidłowego utrzymywania i eksploatacji zwierząt. Współczesny system utrzymania zwierząt winien spełniać ich potrzeby w zakresie etologii, ergonomii, ochrony ekologicznej środowiska oraz zapewniać opłacalność ekonomiczną produkcji. Towarzyszący koniom ruch, wynikający z ich usposobienia (behawioru), może wpływać zarówno negatywnie, jak i pozytywnie na organizm zwierzęcia oraz indukować zmienność składników płynów ustrojowych.

**Cel badań:** Określenie wpływu wysiłku treningowego na zdolność adaptacyjną koni i ich dobrostan.

**Materiał i metody:** Badania zostały przeprowadzone w stadzie znajdującym się na terenie województwa lubelskiego. Do doświadczenia wybrano 25 koni wierzchowych półkrwi, startujących w dyscyplinie skoki przez przeszkody. Grupę doświadczalną stanowiło 12 ogierów i 13 klaczy w wieku 3–7 lat. Zwierzęta objęte były codziennym programem treningowym. Konie znajdowały się pod stałym nadzorem lekarza weterynarii i były poddawane zabiegom profilaktycznym, zgodnie z programem obowiązującym dla tego gatunku zwierząt. Krew do oznaczeń pobrano czterokrotnie. We krwi pełnej oznaczono: ogólną liczbę erytrocytów (RBC), hematokryt (Ht), stężenie hemoglobiny (Hb), średnią objętość krwinek czerwonych (MCV), średnią zawartość hemoglobiny (MCH), średnie stężenie hemoglobiny w krwince (MCHC) oraz wskaźnik zróżnicowania objętości czerwonych krwinek (RDW). Badania wykonano przy użyciu analizatora hematologicznego MS9.

**Wyniki i omówienie:** Głównym źródłem cierpienia u koni są ich choroby, skaleczenia, wypadki i przetrenowanie. Użytkowników (właścicieli, jeźdźców) koni sportowych i uczestników zawodów obowiązują zasady zawarte w określonych przepisach weterynaryjnych. Przeprowadzone badania wykazały, że nasilający się wysiłek fizyczny koni sportowych wywołał wzrost badanych wskaźników czerwonekrwinkowych, takich jak: RBC, Ht, MCV. Spadek odnotowano w stosunku do wskaźników pośrednich, jak: hemoglobina, średnia zawartość hemoglobiny oraz średnie stężenie hemoglobiny w krwince. Analiza statystyczna wyników wykazała istotność różnic na poziomie  $p < 0,05$  następujących parametrów: RBC i hematokryt. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że zaplanowany wysiłek fizyczny koni nie spowodował obniżenia poziomu dobrostanu. Badanie elementów układu czerwonekrwinkowego stanowi istotny element planowania i monitorowania wysiłku treningowego koni, mający na celu zachowanie wymogów dobrostanu tych zwierząt.

**Pismienictwo:**

- [1] Neuberg K., Geringer de Oedenberg H., 2007. Wpływ treningu na wybrane parametry hematologiczne u koni sportowych. *Acta Sci. Pol., Zootechnica*, 6:4, 59–68.
- [2] Szarska E., 2003. Znaczenie badań diagnostycznych krwi w ocenie stanu zdrowia oraz efektywności treningu koni wyścigowych i sportowych. *Zesz. AR Wroc.*, 471, Rozpr. CCIII.
- [3] Piccione G., Fazio F., Giudice E., Grasso F., Giovanni C., 2004. Changes in hematological parameters and clotting times in the horse during a long distance running. *Med. Vet.*, 60, 587–590.
- [4] Jaskólski A., 2002. Podstawy fizjologii wysiłku fizycznego. Wydaw. AWF, Wrocław.





## KONDYCJA NOREK W OKRESIE OKOŁOPORODOWYM JAKO WSKAŹNIK DOBROSTANU

### CONDITION OF MINKS IN PERINATAL PERIOD AS A WELFARE MEASURE

Hanna Bis-Wencel, Monika Bryl, Agnieszka Rowicka, Monika Matyjaszczyk, Dariusz Wolski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, ul. Akademicka 13, Lublin, e-mail: hanna.biswencel@up.lublin.pl

**Wstęp:** Otyłość stała się jednym z najpoważniejszych problemów zdrowotnych współczesnych społeczeństw. Dotyczy ona zarówno ludzi, jak i zwierząt. Z jednej strony postrzegana jest jako synonim dobrostanu, z drugiej definiowana jako choroba przewlekła, charakteryzująca się zwiększeniem ilości tkanki tłuszczowej. Obecnie uważa się, że tkanka tłuszczowa aktywnie uczestniczy w przemianach metabolicznych ustroju i traktowana jest jako największy organ wydzielania wewnętrznego, którego aktywność silnie wpływa na funkcje innych narządów.

**Cel badań:** Poszukiwanie nowych wskaźników pozwalających określić jednolite kryteria dobrostanu metabolicznego zwierząt na podstawie kondycji ciała w powiązaniu z czynnikami sprzyjającymi otyłości i ich implikacji rozrodu.

**Materiał i metody:** Na fermie liczącej 1200 norek odmiany barwnej scanbrown stada podstawowego przeprowadzono badania kondycji zwierząt oraz oznaczono poziom glukozy, hemoglobiny i hemoglobiny glikowanej we krwi samic. Stężenie glukozy w surowicy oznaczono za pomocą odczynników firmy Cormay, natomiast stężenie hemoglobiny całkowitej i hemoglobiny glikowanej (HbA1C) testem chromatograficzno-spektrofotometrycznym. Zwierzęta żywione były karmą zbilansowaną, przy czym wielkość dawki pokarmowej ustalano indywidualnie w zależności od kondycji zwierząt. Do oceny kondycji norek zastosowano opracowany przez Hynesa i wsp. [1] system punktacji BCS, użyteczny do oceny otyłości u norek. Spośród badanych samic wytypowano samice zaliczone do grup określonych jako BCS 2 (chude) o wadze  $922,3 \pm 15,6$  g oraz BCS 4 (otyle) o wadze  $1315 \pm 12,1$  g. Krew pobierano pięciokrotnie: w styczniu (rozród), kwietniu (ciąża), maju (połowa laktacji), czerwcu (późna laktacja) i po odsadzeniu młodych.

**Wyniki i omówienie:** Poziom glukozy, hemoglobiny i hemoglobiny glikowanej u norek obu grup BCS wykazywał tendencję wzrostową w okresie laktacji, przy czym odnotowano wyższe wartości wszystkich ocenianych parametrów w grupie samic BCS4. W okresie odsadzenia wartość glukozy i stężenie hemoglobiny glikowanej powróciły do wartości wyjściowych sprzed okresu ciąży. Badania ostatniej dekady prowadzone na fermach mięsożernych zwierząt futerkowych w Polsce dotyczące wskaźników ich zdrowia i rozrodu w aspekcie spełnienia wymagań Kodeksu Dobrostanu wykazały, że mimo restrykcyjnego przestrzegania warunków żywienia i utrzymania zwierząt istnieją problemy zdrowotne związane z rozrodem szczególnie samic dwutrzyletnich, wynikające z wysokoenergetycznej diety, nasilające się w okresie okołoporodowym. Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że podwyższenie wartości ocenianych parametrów w okresie laktacji wynikało z okołoporodowego przełomu metabolicznego i nie wskazywało na patologię związaną z pojawieniem się syndromu metabolicznego.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Hynes A.M., Rouvinen-Watt K., Armstrong D., 2004. Body condition and glycaemic control in mink females during reproduction and lactation. Proc. VIII Int. Sci. Cong. Fur Anim. Prod. The Netherlands, 15–18 September 2004. Scientifur, 28(3), 79–86.
- [2] Clausen T.N., Olsen C.R., Hanes O., Wamberg S., 1992. Nursing Sickness in the lactating mink (*Mustela vison*) I. Epidemiological and pathological observations. Can. J. Vet. Res., 56, 89–94.
- [3] Møller S.H., 2004. Management of health in mink. A HACCP plan for energy allowance during winter and gestation in order to control sticky kits. VIII International Scientific Congress in Fur Animal Production. The Netherlands, 15–18 September 2004.



## WPLYW KLIMATU ZEWNĘTRZNEGO NA WARUNKI TERMICZNO-WILGOTNOŚCIOWE W FERMACH KURCZĄT BROJLERÓW

### THE INFLUENCE OF OUTSIDE CLIMATE ON THE TEMPERATURE AND HUMIDITY CONDITIONS IN THE BROILER CHICKENS FARMS

Teresa Bombik, Elżbieta Bombik

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach, Wydział Przyrodniczy, Katedra Rozrodu i Higieny Zwierząt, ul. B. Prusa 14, 08-110 Siedlce, e-mail: ebombik@op.pl

**Wstęp:** Wyniki produkcyjne i dobrostan kurcząt brojlerów zależą od ich wartości genetycznej, żywienia i warunków zoohigienicznych (głównie temperatury i wilgotności względnej powietrza) w budynkach. Jednym z czynników wpływających na kształtowanie się tych parametrów jest klimat zewnętrzny.

**Cel badań:** Ocena układu termiczno-wilgotnościowego w fermach kurcząt brojlerów. Określono również wpływ warunków zewnętrznych na kształtowanie się tych parametrów w pomieszczeniach.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiły dwie fermy (A – 14 000 szt. kurcząt brojlerów, B – 18 000 szt.) o podobnych rozwiązaniach techniczno-technologicznych. Pomiary temperatury i wilgotności względnej powietrza przeprowadzono w okresie zimowym, opierając się na pracy metodycznej Kośli [1]. Parametry te rejestrowano przez cały okres tuczu ptaków (od wstawienia do szóstego tygodnia) i na zewnątrz obiektów przy użyciu termohigrografów tygodniowych i termohigrometru COMET D3121. Pomiary wykonywano trzy razy dziennie (około godziny 7.00, 13.00 i 19.00) w następujących punktach: środek pomieszczeń i w odległości 5–7 m od ścian szczytowych. Parametry te mierzono na wysokości grzbietu ptaków. Określono również zależności między wartością tych parametrów w brojlerniach (y) a warunkami zewnętrznymi (x), obliczając współczynnik regresji ( $b_{yx}$ ) i korelacji (r). Metody obliczeń statystycznych zaczerpnięto z pracy Trętowskiego i Wójcika [4].

**Wyniki i omówienie:** Korzystniejsze warunki termiczno-wilgotnościowe panowały w brojlerni A o zagęszczeniu ptaków w końcowej fazie tuczu 16,9 szt./m<sup>2</sup>. Natomiast w obiekcie B, gdzie obsada kurcząt była niższa (o 2,5 szt./m<sup>2</sup>), wykazano niewielkie odchylenia tych parametrów od norm zoohigienicznych [3, 4], które obniżały poziom dobrostanu ptaków i wyniki produkcyjne. W okresie odchowu kurcząt brojlerów (1.–6. tydz.) ekstremalne wartości temperatury i wilgotności względnej powietrza wynosiły w budynku A: 33,2–16,8°C i 57–77% i w B: 29,6–15,8°C i 46–83%. Należy zaznaczyć, że w okresie pomiarów najniższa temperatura zewnętrzna wynosiła -19°C. Obliczenia statystyczne wykazały wpływ temperatury zewnętrznej na kształtowanie się tego parametru wewnątrz badanych obiektów, co świadczy o niskiej ich ciepłochronności. Udowodniono wysoce istotną zależność między temperaturą powietrza w budynkach A i B a temperaturą na zewnątrz (r dla obiektu A i B odpowiednio: 0,873<sup>xx</sup> i 0,905<sup>xx</sup>;  $b_{yx}$  dla obiektu A i B odpowiednio: 1,05 i 1,36). Nie wykazano takiej zależności dla wilgotności względnej powietrza, czyli zwiększenie (lub zmniejszenie) wilgotności powietrza na zewnątrz o jednostkę nie powoduje wzrostu (lub spadku) wilgotności w pomieszczeniach.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kośla T., 2011. *Metodyka badań z higieny zwierząt i prewencji weterynaryjnej*. Wyd. SGGW Warszawa.
- [2] Mazanowski A., 2011. *Nowoczesna produkcja kurcząt brojlerów*. Wyd. Pro Agricola Sp. z o.o., Gietrzwałd.
- [3] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 15 lutego 2010 r. w sprawie wymagań i sposobu postępowania przy utrzymywaniu gatunków zwierząt gospodarskich, dla których normy ochrony zostały określone w przepisach Unii Europejskiej (Dz.U. Nr 56, poz. 344).
- [4] Trętowski J., Wójcik A.R., 1991, *Metodyka doświadczeń rolniczych*. Wyd. WSRP Siedlce.



## EMISJA AMONIAKU Z ZAKŁADÓW UTYLIZACJI PADŁYCH ZWIERZĄT

### AMMONIA EMISSION FROM ANIMAL WASTE UTILIZATION PLANT

Anna Chmielowiec-Korzeniowska, Leszek Tymczyna, Agata Drabik, Łukasz Krzosek

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, e-mail: [anna.korzeniowska@up.lublin.pl](mailto:anna.korzeniowska@up.lublin.pl)

**Wstęp:** Istotny problem ochrony środowiska związany z utylizacją odpadów pochodzenia zwierzęcego stanowi emisja gazów i związków odorogennych. Głównym związkiem powstającym przy rozkładzie białka zwierzęcego jest amoniak, gaz wysoce toksyczny, oddziałujący przede wszystkim na układ oddechowy. Przy stężeniu powyżej 30 ppm wywołuje zmiany o charakterze funkcjonalnym i strukturalnym. Nawet niewielkie stężenie 7,5 ppm (5,6 mg/m<sup>3</sup>) wiąże się z problemami oddechowymi i zwiększa podatność na infekcje [1], stąd celem przeprowadzonych badań było oznaczenie koncentracji amoniaku w powietrzu zakładu utylizacji odpadów pochodzenia zwierzęcego.

**Materiał i metody:** Badania wykonano w zakładzie utylizacji padłych zwierząt. Podstawowymi surowcami unieszkodliwianymi w zakładzie były odpady padłych lub ubitych zwierząt (02 01 82) lub odpadowej tkanki zwierzęcej (02 02 81). Materiał kategorii 1 (52,2%), 2 (21,8%) oraz 3 (26,0%), zgodnie z wymogami, był sterylizowany w temperaturze 133°C, pod ciśnieniem 3 bary przez 20 minut, a wielkość rozdrobnienia nie przekraczała 5 cm. Uzyskana mączka i tłuszcz jako biomasa energetyczna dostarczana była do końcowego spalania poza zakładem.

Oznaczenia przeprowadzono w okresie letnim w 10 kolejnych seriach. Próby powietrza pobierano na terenie zakładu i 100 m od jego granicy w 6 punktach, tj. 1) w hali sekcijnej, gdzie składowany jest dostarczany surowiec odpadowy; 2) w hali destruktorów i 3) kanale wentylacyjnym hali, gdzie następowała utylizacja materiału; 4) w magazynie produktu; 5) 1 m od oczyszczalni ścieków i 6) 100 m od granicy zakładu.

Stężenie amoniaku określano metodą chromatografii jonowej z zastosowaniem chromatografu cieczowego firmy Watersa, podłączonego do kolumny analitycznej (IC-PAK Anion HR, Waters Corp. Milord, USA) współpracującej z detektorem konduktometrycznym i UV.

**Wyniki i omówienie:** W zakładach utylizujących odpady pochodzenia zwierzęcego związki gazowe uwalniane są głównie z miejsc składowania surowca odpadowego. Powstają również w procesie technologicznym, tj. podczas kondensacji par powstających przy suszeniu i sterylizacji odpadów, w trakcie mycia urządzeń, jak również, ale w mniejszym stopniu podczas oczyszczania ścieków powstających w zakładach. Przeprowadzone badania wykazały nieznacznie zanieczyszczenie powietrza amoniakiem. W magazynie produktu i hali sekcijnej, gdzie składowany jest materiał odpadowy, średnie stężenie amoniaku wyniosło zaledwie 0,36 i 0,30 mg/m<sup>3</sup> (odpowiednio). Bardzo wysoką koncentrację amoniaku oznaczano w kanale wylotowym z hali destruktorów. Nad powierzchnią ścieków średnia koncentracja amoniaku wyniosła 37,8 mg/m<sup>3</sup>.

Należy pamiętać, że mieszkańcy terenów przylegających do tego typu zakładów są wystawiani na działanie całego kompleksu czynników przenoszonych drogą powietrzną. Oprócz czynników chemicznych w dużym nasileniu występują czynniki biologiczne oraz pył organiczny, który jest ich głównym transmiterem. Z tych też powodów w Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej z 1999 r. (Dz. U. Nr 3, poz. 23) pojawiają się szczegółowe zapisy dotyczące lokalizacji i minimalnego dystansu od zabudowań mieszkalnych tego typu obiektów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dewey C.E., Cox B., Leyenaar J., 2000. Measuring ammonia concentrations in the barn using the Draeger™ and pHydri™ tests, *Swine Health Prod.*, 8:(3), 127–131.
- [2] Kołacz R., 2001. Środowiskowe czynniki ryzyka występowania schorzeń układu oddechowego u świń, *Mag. Wet.*, 6, 26–27.



## WPŁYW STRESU TERMICZNEGO NA DOBROSTAN U OWIEC

## THE INFLUENCE OF HEAT STRESS ON SHEEP WELFARE

Przemysław Cwynar, Roman Kołacz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38C, 51-630 Wrocław, e-mail: przemyslaw.cwynar@up.wroc.pl

**Wstęp:** Stres jest oznaką obniżonego dobrostanu, a jednym z podstawowych źródeł informacji określającej jego intensywność są mechanizmy fizjologiczne, które dostosowują zwierzęta do zaistniałych czynników stresowych poprzez zmiany w wewnętrznej równowadze, czyli homeostazie organizmu. Jedną z wielu przyczyn reakcji stresowych jest wzrost temperatury otoczenia, wywołującej stres termiczny.

**Cel pracy:** Ocena dobrostanu owiec utrzymywanych w warunkach komfortowych (grupa I:  $17^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) oraz określenie intensywności stresu termicznego (grupa II:  $30^{\circ}\text{C}$ , grupa III:  $50^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) na poziom ich dobrostanu na podstawie analizy parametrów fizjologicznych i wieloaspektowej analizy krwi tych zwierząt.

**Materiał i metody:** Zwierzętami doświadczalnymi były owce rasy Merynos Polski. Doświadczenia prowadzono w komorze klimatycznej przy całodobowej analizie czynników mikroklimatycznych (System Scada Pro, MicroB, Polska), ze szczególnym uwzględnieniem temperatury, wilgotności, ruchu powietrza oraz stężenia domieszek gazowych w powietrzu. U owiec analizowano wskaźniki fizjologiczne, tj. tętno, częstotliwość oddechów, temperaturę wewnętrzną (pomiar *per rectum*) oraz temperaturę skóry. Wykonano również morfologiczne, biochemiczne i hormonalne analizy krwi, pobierając krew z żyły szyjnej zewnętrznej (*vena jugularis externa*) za pomocą igłostrzykawek Monovette® (Sarstedt, Niemcy). W badaniach krwi posłużono się urządzeniami ABX VET, Pentra-400 (HORIBA ABX, Canada) oraz SYNERGY (Biotek, USA). Hormonalne analizy krwi przeprowadzono metodą immunoenzymatyczną (ELISA). Ewaluację wyników wykonano programem Statistica, jednozynnikową analizą wariancji (ANOVA), a istotność różnic oceniono testem Tukey'a.

**Wyniki i omówienie:** Stwierdzono, że w grupie III średnia częstotliwość akcji serca wyniosła 86,63/min, bez istotnych różnic w porównaniu z grupą I, natomiast z różnicami wysoko istotnymi w porównaniu z grupą II. Średnia liczba oddechów w grupie III wyniosła 126,1, co w porównaniu z grupą I (57,91/min) uznano za wysoce istotną statystycznie różnicę ( $p < 0,001$ ). Doświadczenie ujawniło widoczne pogłębienie oddechów u owiec kosztem zmniejszenia częstotliwości ich występowania wprost proporcjonalnie do zwiększającej się temperatury otoczenia, co potwierdza możliwość utraty nawet 60% ciepła przez wentylację płuc [1]. Średnia temperatura wewnętrzna u zwierząt utrzymywanych w grupie III wynosiła  $39,9^{\circ}\text{C}$  i różniła się wysoce istotnie statystycznie w porównaniu z owcami z grup I i II. Pereira i wsp. [3] zwracają uwagę, że kontrola temperatury wewnętrznej jest istotnym wskaźnikiem w ocenie stresu termicznego, szczególnie u przeżuwaczy. Różnice statystyczne wykryto również w analizie temperatury skóry tych zwierząt. Analiza biochemiczna krwi wykazała tendencję spadkową stężenia glukozy we krwi, podobnie jak AST oraz CK. W analizie hormonalnej krwi u owiec z grupy III stwierdzono średni poziom kortyzolu 16,97 ng/ml, co uznano za różnicę wysoce istotną w porównaniu z wynikami z grupy I (1,77 ng/ml) oraz istotną dla zwierząt z grupy II (11,86 ng/ml). Podobną tendencję wzrostową w poziomie tego hormonu ustalili Nazifi i wsp. [2], określając stres termiczny jako możliwość bezpośredniego zagrożenia życia już w temperaturze  $40^{\circ}\text{C}$ . Średni poziom noradrenaliny wynosił 24,71 ng/ml (grupa III), co uznano za różnicę istotną statystycznie w porównaniu z grupą I (9,91 ng/ml) i II (11,49 ng/ml).

**Piśmiennictwo:**

- [1] Marai I.F.M. i wsp., 2000. *Annals of Arid Zone*, 39 (4), 449–460.
- [2] Pereira A.M.F. i wsp., 2008. *International Journal of Biometeorology*, 52, 199–208.
- [3] Nazifi S. i wsp., 2008. *Comparative Clinical Pathology*, 2003, 12, 135–139.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2010–2012; grant: N N 311 279238.





## WPŁYW PREPARATU NANOTECHNOLOGICZNO-MINERALNEGO NA KUMULACJĘ AG I PIERWIASTKÓW ANTAGONISTYCZNYCH (CU, ZN I SE) WE KRWI KUR NIEŚNYCH I KURCZĄT BROJLERÓW

### AN INFLUENCE OF NANOTECHNOLOGICAL-MINERAL PREPARATION ON AN ACCUMULATION OF AG AND ANTAGONISTIC ELEMENTS (CU, ZN & SE) IN BLOOD OF LAYING HENS AND BROILER CHICKENS

Katarzyna Czyż<sup>2</sup>, Zbigniew Dobrzański<sup>1</sup>, Bożena Patkowska-Sokoła<sup>2</sup>, Magdalena Zabłocka<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, <sup>1</sup>Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, <sup>2</sup>Instytut Hodowli Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38c, 51-630 Wrocław, e-mail: katarzyna.cyz@interia.eu

**Wstęp:** W związku z dynamicznym rozwojem nanotechnologii i coraz szerszym zastosowaniem różnego rodzaju produktów nanotechnologicznych w wielu dziedzinach przemysłu, nauki, a także w życiu codziennym zaistniała potrzeba badań dotyczących wpływu tych preparatów na organizmy żywe. Wiele z nich zawiera związki srebra, które w nadmiarze nie są obojętne dla zdrowia zwierząt i człowieka.

**Cel badań:** Określenie kumulacji srebra (Ag) oraz pierwiastków antagonistycznych (Cu, Se i Zn) we krwi kur nieśnych i kurcząt brojlerów po zastosowaniu preparatu nanotechnologiczno-mineralnego (PN-M) o właściwościach biobójczych jako dodatku do ściółki.

**Materiał i metody:** Nanopreparat użyty do badań uzyskano, nanosząc wodną zawiesinę nanosrebra o stężeniu 1000 ppm metodą natryskową na sorbent w temperaturze pokojowej w ilości 100 ml/1 sorbentu. W charakterze sorbentu zastosowano ekspandowany wermikulit z 5% dodatkiem humodetrynitru.

Badania na kurach nieśnych wykonano w kurniku doświadczalnym, w którym utrzymywano ok. 150 kur nieśnych linii Lohmann Brown. Utworzone zostały 3 grupy: grupa K – ściółka słomiasta bez dodatków; grupa A – warstwa preparatu PN-M w ilości ok. 0,25 kg/m<sup>2</sup> powierzchni ściółki; grupa B – warstwa preparatu PN-M w ilości ok. 0,50 kg/m<sup>2</sup>. Preparat stosowano co 3 tyg. (początek w 1 tyg., a następnie w końcu 3., 6. i 9. tyg. doświadczenia), rozsypując równomiernie na powierzchnię ściółki w boksach. Nie stosowano dościelania, początkowa warstwa ściółki (z pomiotem) miała ok. 20 cm grubości. Krew do badań laboratoryjnych pobrano jednorazowo na końcu doświadczenia (n=10).

W drugim doświadczeniu materiał badawczy stanowiły kurczęta brojlery (250 szt. w wieku 2 tyg.) linii Ross 308 utrzymywane na ściółce słomiasto-trocinowej. Utworzono trzy grupy badawcze; grupa K – bez dodatku preparatu; grupa A – dodatek PN-M w ilości 0,6 kg/m<sup>2</sup> pod powierzchnię ściółki – jednorazowo na początku doświadczenia; grupa B – dodatek preparatu w ilości 0,6 kg/m<sup>2</sup> – zmieszany ze ściółką, a następnie dodawany przy każdym dościelaniu słomy i trocin, tj. 3., 10., 17. i 24. dnia doświadczenia. Krew do analiz pobrana została w ostatnim dniu doświadczenia (n=12).

Próbki krwi zostały zmineralizowane na mokro z kwasem azotowym w piecu mikrofalowym. Zawartość Ag, Cu i Zn oznaczono metodą spektroskopii absorpcji atomowej na aparacie AAS-1N. Stężenie Se oznaczono metodą absorpcyjnej spektrofotometrii atomowej z generacją wodorków, według metodyki opisanej przez Diaz-Alarcon i wsp. [1994] w układzie zamkniętym.

**Wyniki i omówienie:** We krwi niosek nie odnotowano między grupami istotnych różnic w zawartości Ag, Cu i Zn, a we krwi brojlerów także Ag, Se i Zn. U tych pierwszych ptaków stwierdzono istotny wzrost Se w grupach doświadczalnych (synergizm), zaś u tych drugich istotny spadek Cu, (antagonizm). Tak więc preparat zawierający nAg w ograniczony sposób wpływa na stężenie we krwi Se i Cu, nie oddziałując na koncentrację Zn.

Badania wykonano, realizując projekt badawczy nr N N205 018634 finansowany przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.



## BIOAKUMULACJA OŁOWIU I KADMU W SUROWCACH I ROŚLINACH PASZOWYCH W REJONIE LGOM

### BIAACUMULATION OF LEAD AND CADMIUM IN RAW FEED PLANT IN COPPER INDUSTRY REGION

Zbigniew Dobrzański<sup>1</sup>, Roman Kołacz<sup>1</sup>, Stanisław Czaban<sup>2</sup>, Przemysław Cwynar<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt,  
ul. Chełmońskiego 38 C, 51-630 Wrocław, e-mail: zbigniew.dobrzanski@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Inżynierii Środowiska, pl. Grunwaldzki 24

**Wstęp:** Rośliny mogą akumulować metale toksyczne zarówno poprzez system korzeniowy, jak i części nadziemne, szczególnie w rejonach uprzemysłowionych, gdzie występuje emisja pyłów metalonocnych, np. w rejonie zagłębia miedziowego (huty, kopalnie).

**Cel badań:** Ocena akumulacji niektórych metali ciężkich (kadm i ołów) w roślinach paszowych (siano, zboże, ziemniaki) pochodzących z rejonu oddziaływania przemysłu miedziowego (LGOM).

**Materiał i metody:** Materiał do badań (siano – sucha trawa, zboże – ziarno pszenicy, ziemniaki – bulwy) pobierano jednorazowo jesienią w 2011 r. bezpośrednio z gospodarstw rolnych położonych w rejonie LGOM, w pobliżu oddziaływania zbiornika odpadów poflotacyjnych, kopalnianych szybów wentylacyjnych, zakładów przetwórstwa miedzi. Oznaczenia metali przeprowadzono metodą analityczną ICP (ang. *Inductively Coupled Plasma*) z mikrofalową techniką spalania prób biologicznych (aparatur Milestone). Wyniki opracowano statystycznie,

**Wyniki i omówienie:** W próbach siana wartości Pb i Cd wyniosły średnio 1,05 i 0,125 mg/kg, w zbożach 0,145 i 0,013 mg/kg oraz w ziemniakach 0,183 i kadmu 0,041 mg/kg św.m. Maksymalną zawartość stwierdzono w sianie, kadmu 0,30 i ołowiu 3,76 mg/kg. W literaturze krajowej podawane są bardzo różne wartości tych metali w paszach i surowcach paszowych [Bieszczad, Sobota 1999, Kabata-Pendias, Pendias 1999, Kołacz, Dobrzański 2006], natomiast ważne jest Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 9.08.2010 r. (Dz. U. Nr 155, poz. 1044), które ustala maksymalną zawartość tych metali w materiałach paszowych na 10 mgPb/kg oraz 1mgCd/kg. Generalnie, w badanych roślinach i surowcach paszowych nie stwierdzono zwiększonej akumulacji metali ciężkich, zwraca jedynie uwagę podwyższony poziom Cd w sianie.



## WPŁYW PODANIA *IN OVO* METIONINY I KWASU FOLIOWEGO NA PROCENTOWY WZÓR LEUKOCYTARNY KRWI NOWO WYKLUTYCH PISKŁĄT

### THE INFLUENCE OF INJECTION *IN OVO* OF METHIONINE AND FOLIC ACID ON DIFFERENTIAL LEUCOCYTE COUNT IN BLOOD OF NEW HATCHED CHICKS

Karolina Głodek, Agnieszka Ludwikowska, Marcin Lis, Jerzy Niedziółka, Hanna Lutnicka

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Katedra Hodowli Drobiu, Zwierząt Futerkowych i Zoohigieny,  
Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, e-mail: k.głodek@ur.krakow.pl

**Wstęp:** Metionina jest jednym z najczęściej suplementowanych aminokwasów w paszach dla drobiu, ponieważ jako aminokwas rozpoczynający proces tworzenia łańcuchów peptydowych jest czynnikiem limitującym. Dlatego wydaje się, że jego iniekcja *in ovo* może wpływać na lepsze wykorzystanie przez zarodek pozostałych aminokwasów znajdujących się w jajach [1,4]. Istnieje jednak obawa, że zwiększona dostępność metioniny, która w cyklu przemian biochemicznych ulega demetylacji do homocysteiny, może sprzyjać zwiększeniu ryzyka wystąpienia chorób układu krwionośnego [5]. Jednocześnie kwas foliowy oraz inne witaminy z grupy B, biorąc udział w procesie remetylacji homocysteiny, obniżają jej poziom. Ponadto kwas foliowy pełni istotną rolę w procesie hematopoezy [1, 3, 5].

**Cel pracy:** Zbadanie wpływu suplementacji *in ovo* metioniną i/lub kwasem foliowym na wzór odsetkowy leukocytów we krwi nowo wyklutych piskląt.

**Materiał i metody:** Iniekcję *in ovo* przeprowadzono w 4. dniu embriogenezy (E4), podając do białka jaja (n=10 jaj/grupę) roztwór 250  $\mu$ l 0,7% płynu fizjologicznego zawierający rozpuszczone 50 mg metioniny/jajo (G1), 30 mg kwasu foliowego/jajo (G2) lub mieszaninę obu związków: 50 mg metioniny i 30 mg kwasu foliowego/jajo (G3). Grupę kontrolną stanowiły jaja iniekowane 250  $\mu$ l czystego płynu fizjologicznego. Inkubację prowadzono w warunkach standardowych. Krew od kurcząt pobierano w pierwszej dobie po wylęgu (D1), wykonując równocześnie po 3 rozmazy dla każdego osobnika. Rozmazy barwiono za pomocą zestawu odczynnikowego Hemacolor<sup>®</sup>. Wzory odsetkowe leukocytów liczone były metodą dwupolową meandrową, a uzyskane wyniki zostały uśrednione dla każdego osobnika. Uzyskane dane analizowano statystycznie z użyciem testu  $\chi^2$  oraz testem z.

**Wyniki:** Na podstawie leukocytogramów stwierdzono, że w grupie kontrolnej procentowy udział limfocytów wynosił 27,6, heterofili 43,9, eozynofili 19,3, bazofili 3,3 i monocytów 5,9%. Przeprowadzone analizy wykazały, że w porównaniu z grupą kontrolną suplementacja *in ovo* metioniny lub kwasu foliowego istotnie zmieniała obraz odsetkowy leukocytów we krwi jednodniowych kurcząt ( $P \leq 0,01$ ). Nie zaobserwowano takiego zjawiska w przypadku podania mieszaniny tych dwóch substancji ( $P > 0,05$ ). Najważniejsze różnice dotyczyły zwiększenia pod wpływem metioniny procentowego udziału eozynofili do 30,4 ( $P \leq 0,01$ ), obniżenia bazofili do 0,9 i monocytów do 3,1% ( $P \leq 0,05$ ). Pod wpływem kwasu foliowego: zwiększenia udziału limfocytów do 52,3% i obniżenia heterofili do 25,3% ( $P \leq 0,01$ ).

**Dyskusja:** Otrzymane wyniki wskazują, że wysokie dawki kwasu foliowego i metioniny podawane we wczesnym okresie zarodkowym mogą mieć wpływ na obraz krwi piskląt. W konsekwencji może to rzutować na przebieg rozwoju postembrionalnego, kształtowanie się odporności i wyniki produkcyjne. Dlatego koniecznym wydaje się przeprowadzenie dalszych badań.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Czeczot H., 2008. Kwas foliowy w fizjologii i patologii. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 62, 405–419.



- [2] Fisher C., 1998. Amino acids requirements of broiler breeders. *Poultry Science*, 77, 124–133.
- [3] Main P.A., Angley M.T., Thomas P., O'Doherty C.E., Fenech M., 2010. Folate and methionine metabolism in autism: a systematic review. *The Am. Journal of Clinical Nutrition* 91, 1598–620.
- [4] Molenaar R., Reijrink I.A.M., Meijerhof R., Van den Brand H., 2010. Meeting embryonic Requirements of broilers throughout Incubation: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science* 12(3), 137–148.
- [5] Orzechowska-Pawłojć A., Lewczuk A., Sworczak K., 2005. The influence of thyroid hormones on homocysteine and atherosclerotic vascular disease. *Polish Journal of Endocrinology* 56(2), 194–202.





## PRZYDATNOŚĆ ENZYMU KARBAMYLOTRANSFERAZY ORNITYNOWEJ W DIAGNOSTYCE WĄTROBY KRÓW MLECZNYCH PRZY STOSOWANIU DODATKÓW TŁUSZCZOWYCH DO PASZY

### USEFULNESS OF ORNITHINE CARBAMYLOTRANSFERASIS IN THE DAIRY COWS LIVER DIAGNOSIS DURING FEED ADDITIVE IN FODDER

Witold Janeczek, Krystyna Pogoda-Sewerniak, Anna Burek, Robert Kupczyński, Maciej Adamski

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38C, 51-630 Wrocław, e-mail: witold.janeczek@up.wroc.pl

**Wstęp:** Karbamylotransferaza ornitynowa (OCT) została odkryta w 1955 r. przez Krebsa i współpracowników jako kluczowy enzym cyklu mocznikowego wszystkich kręgowców. Enzym ten, w kolejnych latach, został wprowadzony do diagnostyki klinicznej zdrowia krów [Kawamura 1972]. Najnowsze prace w diagnostowaniu schorzeń wątroby zarówno ludzi, jak i zwierząt laboratoryjnych prowadzili Murayama i wsp. [2007a, 2007b].

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w fermie bydła mlecznego liczącej 320 krów (PHF), o wydajności ok. 8 500 kg mleka za laktację. Krowy utrzymywane były na uwięzi, na stanowiskach bezściołowych i żywione dawkami TMR zgodnie z normami INRA 2007. Od 1. tygodnia po porodzie do 10. tygodnia laktacji krowom w grupach doświadczalnych dodawano dwa razy dziennie do dawki pokarmowej dodatki tłuszczowe: grupa I – kontrolna, grupa II – 1% suchej masy (SM) dawki pokarmowej oleju rybnego z wątroby dorsza suchej, grupa III – 1% chronionego oleju rybnego (w postaci mikrokapsulek), grupa IV – 1% suszonych mikroalg morskich, grupa V – 0,5 % mikroalg morskich i 0,5 % niechronionego oleju rybnego. Przy użyciu analizatora Pentra 400 firmy Horiba ABX w surowicy krwi oznaczono AST, LDH, GGT, OCT, bilirubinę, kwasy żółciowe oraz całkowity status antyoksydacyjny.

**Wyniki i omówienie:** Analizując parametry biochemiczne surowicy krwi krów, stwierdzono, że aktywność AST, LDH na początku i na końcu doświadczenia była zbliżona u wszystkich grup krów, natomiast w przypadku GGT jej aktywność w surowicy krwi krów, którym podawano algi, wzrosła z 25,20 do 41,93 U/l (o 66%), jednak wszystkie wartości mieściły się w granicach wartości referencyjnych podawanych przez Winnicką [2008]. Analizując aktywność OCT, stwierdzono, że w ciągu ośmiu tygodni podawania dodatków tłuszczowych największy wzrost aktywności tego enzymu był u krów, którym podawano olej chroniony (o 133,6%), a najniższy – którym dodawano olej niechroniony (20,4%). W surowicy krwi krów otrzymujących algi morskie również wzrost aktywności był większy niż u krów kontrolnych. U zdrowych krów aktywność OCT, wg Tsuchiya i wsp. [1994], nie powinna przekraczać 22–25,1 U/l. W badaniach własnych jedynie w surowicy krwi krów otrzymujących olej niechroniony oraz olej niechroniony i algi aktywność tego enzymu kształtowała się na zbliżonym poziomie (odpowiednio 16,31 i 21,78 U/l). W surowicy krwi pozostałych grup aktywność tego enzymu była powyżej tej wartości, najwyższa u krów otrzymujących olej chroniony (31,02 U/l) oraz algi (30,41 U/l).

**Wnioski:** Nie stwierdzono zależności między standardowo oznaczanymi wskaźnikami takimi jak AST, LDH, bilirubina całkowita a aktywnością OCT. Taką zależność stwierdzono w przypadku swoistego dla wątroby enzymu GGT, którego najwyższe wartości wystąpiły w grupie krów otrzymujących algi morskie i olej rybny (w obu formach). Uzyskane wyniki pozwalają przypuszczać, że dodatek tłuszczu chronionego, z pominięciem ich rozkładu w żwaczu, jest większym obciążeniem dla tego narządu niż podawanie ich w formie niechronionej.

Praca wykonana w związku z projektem badawczym N N311 342637 finansowanym ze środków MNiSW.



## BIOAKUMULACJA METALI CIĘŻKICH W MLEKU I KRWI KRÓW Z REJONU ODDZIAŁYWANIA PRZEMYSŁU MIEDZIOWEGO

### BIOACCUMULATION OF HEAVY METALS IN COWS MILK AND BLOOD IN COPPER INDUSTRY REGION

Roman Kołacz, Robert Kupczyński, Zbigniew Dobrzański, Krystyna Pogoda-Sewerniak

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38 C, 51-630 Wrocław, e-mail: roman.kolacz@up.wroc.pl

**Wstęp:** Przemysł miedziowy oddziałuje pośrednio na środowisko poprzez emisję pyłów metalonośnych, zawierających m.in. związki miedzi, arsenu, kadmu czy ołowiu. Mogą się one kumulować w glebie, roślinach oraz w organizmach zwierząt gospodarskich.

**Cel badań:** Ocena akumulacji niektórych metali ciężkich w mleku surowym oraz w pełnej krwi krów utrzymywanych w małych gospodarstwach w rejonie LGOM.

**Materiał i metody:** Materiał do badań (mleko surowe i pełna krew) pobierano od krów utrzymywanych w gospodarstwach indywidualnych położonych w rejonie LGOM, w pobliżu oddziaływania zbiornika odpadów poflotacyjnych, kopalnianych szybów wentylacyjnych oraz zakładów przetwórstwa miedzi. Krowy (n=24) były klinicznie zdrowe w wieku 7–12 lat. Żywienie zwierząt opierało się głównie na pastwisku z dodatkiem paszy treściwej. Oznaczenia metali ciężkich (As, Cd, Cu, Pb) przeprowadzono metodą analityczną ICP (Inductively Coupled Plasma) z mikrofalową techniką spalania prób (aparatur Milestone). Zawartość rtęci (Hg) oznaczono metodą spektrometryczną (analizator AMA-254). Wyniki opracowano statystycznie.

**Wyniki i omówienie:** We krwi krów średnie stężenia As wyniosły: 0,27, Cd 0,035, Cu 0,296, Hg 0,0003 i Pb 0,052 mg/l. Stwierdzone stężenia należy uznać za niskie, mieszczą się one w zakresach podawanych przez innych autorów [2]. W przypadku mleka średnie wartości wynosiły: As 0,007, Cd 0,0014, Cu 0,055, Hg 0,00048 i Pb 0,012 mg/l. Jedynie ołowiu, w trzech próbach, były podwyższone zawartości, ponieważ Rozporządzenie Komisji (WE) z 2006 r. (Dz. U. UE nr L 364/5) dopuszcza tylko 0,02 mgPb/l. Inne wartości stężeń pierwiastków u krów z różnych rejonów, w tym uprzemysłowionych, stwierdzili Dobrzański i wsp. [1]. Generalnie, u krów mlecznych w rejonie oddziaływania przemysłu miedziowego nie stwierdzono zwiększonej akumulacji metali ciężkich we krwi ani w mleku, bez względu na wiek badanych zwierząt. Nie określono korelacji między stężeniem metali we krwi i mleku z uwagi na zbyt małą liczebność prób. Dalsze badania monitoringowe będą kontynuowane.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dobrzański Z., Górecka H., Opaliński S., Chojnacka K., Kołacz R., 2005. Zawartość pierwiastków śladowych i ultraśladowych w mleku i krwi krów, *Med. Wet.* 61:3, 301–304.
- [2] Kabata-Pendias A., Pendias A., 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*, PWN, Warszawa.
- [3] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1881/2006 z dn. 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych (Dz. U. UE nr L 364/5).

*Badania realizowano w związku z działalnością statutową Katedry Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu – nr zadania Z4/S/2011.*



## WYSTĘPOWANIE KLINICZNYCH ZAPALEŃ WYMIENIA W ZALEŻNOŚCI OD SYSTEMU UTRZYMANIA KRÓW

## THE PRESENCE OF MASTITIS CLINICA DEPENDING ON THE SYSTEM FOR MAINTENANCE OF COWS

Henryk Krukowski, Andrzej Lisowski, Piotr Woch

Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt UP, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, e-mail: henryk.krukowski@up.lublin.pl

**Wstęp:** Ostatnie lata w rolnictwie cechowały się trudną do przewidzenia zmiennością opłacalności produkcji bydła, ale też pojawianiem się i wdrażaniem w stadach bydła nowych technologii i szybkim wzrostem wydajności krów mlecznych. Piśmiennictwo nt. mastitis jest niezwykle bogate. Większość publikacji dotyczy z reguły czynników etiologicznych. Brak jest natomiast opracowań dotyczących wpływu czynników środowiskowych.

**Cel badań:** Określenie wpływu systemu utrzymania (uwięziowy, wolnostanowiskowy) na występowanie klinicznych zapaleń wymienia u krów.

**Materiał i metody:** Analizie poddano wszystkie przypadki klinicznych zapaleń wymienia (*mastitis clinica*) zdiagnozowanych w czasie badań krów w kierunku mastitis prowadzonych w Katedrze Higieny Zwierząt i Środowiska. Rozpoznanie *mastitis* przeprowadzono, opierając się na klinicznym badaniu wymienia i makroskopowej ocenie mleka, teście TOK i badaniu mikrobiologicznym. Łącznie analizie poddano 445 przypadków objawowych zapaleń wymienia zdiagnozowanych w czasie badań 2923 krów trzech ras: polskiej holsztyjno-fryzyjskiej odmiany czarno-białej i czerwono-białej (ponad 90% krów), simentalskiej oraz montbeliard z 40 gospodarstw z następujących województw: lubelskiego, opolskiego, śląskiego, małopolskiego, podkarpackiego, mazowieckiego, pomorskiego.

**Wyniki i omówienie:** Choroby krów mlecznych (a przede wszystkim mastitis) są wyrazem rozmijania się potrzeb coraz bardziej wymagającego zwierzęcia z możliwościami, a niekiedy także umiejętnościami i wiedzą hodowców. Utrzymywane obecnie rasy bydła, a przede wszystkim wysoko wydajne krowy mleczne reagują mocniej na wpływy środowiska niż użytkowane dawniej zwierzęta.

Na podstawie 77 badań przeprowadzanych w gospodarstwach z utrzymaniem uwiązowym stwierdzono, że odsetek krów z klinicznymi stanami zapalnymi wynosił średnio 8,51% i wahał się od 0 do 24,29%. Odsetek ćwiartek z *mastitis clinica* w tych gospodarstwach wahał się od 0 do 11,14% (średnio 3,06%). Odsetek krów i ćwiartek objętych zapaleniem klinicznym u krów utrzymywanych wolnostanowiskowo wynosił średnio (odpowiednio): 4,82 i 1,64%. Można zatem stwierdzić, że wolnostanowiskowe utrzymanie krów ma pozytywny wpływ na stan zdrowotny gruczołu mlekowego krów.

### Piśmiennictwo:

- [1] Bradley A.J., Leach K. A., Breen J. E., Green L. E., M. J., Green M. J., 2007. Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record*, 160, 253–258.
- [2] Malinowski E., Lassa H., Kłossowska A., Smulski S., Markiewicz H., Kaczmarowski M., 2006. Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland. *Pol. J. Vet. Sci.*, 9, 191–194.
- [3] Sawa A., 2004. Warunki utrzymania i doju krów oraz ich wpływ na liczbę komórek somatycznych. *Med. Wet.*, 60, 424–427.



## BADANIA NAD ODZIAŁYWANIEM NIEKTÓRYCH OBSZARÓW DOBROSTANU NA WZROST WYDAJNOŚCI KRÓW MLECZNYCH

### RESEARCH ON CERTAIN AREAS OF THE WELFARE EFFECTS ON THE GROWTH PERFORMANCE OF DAIRY COWS

Henryk Maciołek

Uniwersytet im. J. Kochanowskiego w Kielcach, filia w Piotrkowie Trybunalskim

**Wstęp:** Dobrostan najczęściej kojarzony był z wymaganiami dotyczącymi standardów utrzymania zwierząt gospodarskich. Warunki utrzymywania zwierząt wysokoprodukcyjnych są terminem, który powstał wraz z wprowadzeniem chowu i hodowli zwierząt na poziomie produkcji towarowej.

**Cel pracy – analiza wymagań:** Wymagania etologiczne utrzymania zwierząt są uwarunkowane ich właściwościami anatomiczno-fizjologicznymi, które określono w formie kilku wielkości:

- 1) wolne od niedożywienia,
- 2) wolne od termicznego i fizycznego dyskomfortu,
- 3) wolne od strachu i stresu,
- 4) wolne od chorób i zranień,
- 5) wolne do naturalnych zachowań behawioralnych.

**Materiał i metody:** Materiał do badań wpływu obszarów dobrostanu na wydajność krów mlecznych stanowiło 5 gospodarstw liczących 19, 27, 42, 60, 40 krów dojnych rasy HF utrzymywanych w oborach uwięziowych płytkich, wyposażonych w urządzenia dojarskie – mechaniczny dój, prawidłowe żywienie, pojenie, usuwanie obornika, wentylację, itp.

Badaniami objęto:

- 1) mikroklimat środowiska,
- 2) wentylację pomieszczeń inwentarskich,
- 3) ściółkowanie systematyczne, stosując ciętą słomę żytnią,
- 4) gęstość obsady zwierząt produkcyjnych (krowy dojne),
- 5) przestrzeganie warunków sanitarnych w pomieszczeniach oborowych krów mlecznych,
- 6) zachowanie społeczne krów,
- 7) pokarm i wodę odpowiedniej jakości,
- 8) warunki techniczne pomieszczenia oborowego.

**Wyniki i omówienie:** Badanie pogłowia w liczbie rasy HF 188 krów w 5 gospodarstwach i modelach doświadczalnych przy uwzględnieniu wymienionych obszarów dobrostanu, które w metodzie wykazano, że dobrostan zwierząt, w tym krów mlecznych, odgrywa ważny element biologiczno-ekonomiczny oddziałujący na wzrost produkcji mlecznej. Z przeprowadzonych badań z 2006 r. wynika, że do najbardziej korzystnych obszarów oddziaływania dobrostanu zaliczyć należy takie jak:

- 1) prawidłowe i racjonalne żywienie i pojenie krów, które przyczynia się do zwiększenia efektów produkcyjnych mleka w cyklu rocznym o 66,80%;
- 2) odpowiednia wentylacja pomieszczeń inwentarskich, która zwiększa produkcję mleka o 61,79%;
- 3) racjonalne przemieszczanie się i dowolny odpoczynek zwierząt zwiększa produkcję mleka o 37,88%;
- 4) odpowiednie ściółkowanie pociętą słomą żytnią pomieszczeń inwentarskich zwiększa wydajność mleka o 32,28%;
- 5) zachowania społeczne zwierząt zwiększa opłacalność produkcji mleka o 15,75%;

Podsumowując, należy podkreślić, że badane obszary dobrostanu ujęte w założeniach biologiczno-ekonomicznych jakości dobrostanu i behawioru, w tym odnoszące się do krów mlecznych, są bardzo korzystne do wzrostu rachunku ekonomicznego oraz zdrowia zwierząt.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dobrzański Z., Kołacz R., 1996. Przewodnik do ćwiczeń z zoohigieny.
- [2] Płachta T., 1997. Prawne wymogi ochrony środowiska i bezpieczeństwa żywnościowego w chowie bydła i produkcji mleka. AR Wrocław.



## PROBLEM WYSTĘPOWANIA PRZETWORZONEGO BIAŁKA ZWIERZĘCEGO W PRÓBKACH PASZ DLA ZWIERZĄT GOSPODARSKICH

### THE PROBLEM OF OCCURRENCE PROCESSED ANIMAL PROTEIN IN SAMPLES OF FEEDINGSTUFFS FOR FARM ANIMALS

Tomasz Mituniewicz<sup>1</sup>, Janina Sowińska<sup>1</sup>, Dorota Witkowska<sup>1</sup>, Anna Wójcik<sup>1</sup>,  
Joanna Piotrowska<sup>1</sup>, Izabela Szmelter<sup>1</sup>, Jerzy Sobczak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, ul. Oczpowskiego 5, 10-719 Olsztyn

<sup>2</sup>Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Olsztynie, Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Warszawska 109, 10-702 Olsztyn

e-mail: t.mituniewicz@uwm.edu.pl

**Wstęp:** Dodatek przetworzonego białka zwierzęcego do pasz i komponentów paszowych pozostaje ciągle problemem ważnym i nierozwiązanym. Niedostosowanie się hodowców i producentów pasz do zakazu skarmiania pasz zawierających maczki mięsno-kostne może mieć negatywne skutki zarówno dla zwierząt gospodarskich, jak i zdrowia konsumentów.

**Cel pracy:** Analiza wyników badań próbek pasz i materiałów paszowych w kierunku występowania przetworzonego białka zwierzęcego, podczas urzędowej kontroli pasz, na terenie województwa warmińsko-mazurskiego (19 powiatów).

**Materiał i metody:** Analiza występowania przetworzonego białka zwierzęcego w paszach i materiałach paszowych obejmowała obszar monitorowany przez ZHW w Olsztynie, w latach 2007–2011. Dane do jej wykonania zostały zebrane w Zakładzie Higieny Weterynaryjnej, w Dziale Badań Chemicznych Środków Spożywczych Pochodzenia Zwierzęcego i Pasz, w Pracowni Chemii Pasz. Uzyskane wyniki wskazywały na obecność lub brak dodatku przetworzonego białka zwierzęcego w badanych próbkach, które do celów kontroli urzędowej podzielone zostały na 4 główne grupy: pasze dla trzody, bydła, drobiu, pozostałe pasze i materiały paszowe.

**Wyniki i omówienie:** W analizowanym okresie przebadano łącznie 2250 próbek, z czego w 64 (2,84%) stwierdzono obecność przetworzonego białka zwierzęcego. Najczęściej kontrolowanymi paszami były pasze dla trzody chlewnej (1047 próbek) oraz bydła (748 próbek). Największy udział dodatku białka wykazano jednak w komponentach paszowych – 10% próbek dodatnich, następnie w paszach dla drobiu – 4,13%, dla trzody chlewnej – 3,06%, a najniższy w paszach dla bydła – 0,67%. Stwierdzić również należy, iż wyniki uzyskane w województwie warmińsko-warmińskim były zbliżone do średniej dla całego kraju.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kwiatek K., Weiner A., 2006. Aspekty prawne stosowania przetworzonego białka zwierzęcego w żywieniu zwierząt. Higiena żywności i pasz. Med. Wet., 81(6), 413–415.
- [2] Parsons C.M., Castanon F., Han Y., 2007. Protein and amino acid quality of meat and bone meal. Poultry Sci., 76, 361–368.





## CHLOROWANE WĘGLOWODORY AROMATYCZNE W TKANCE TŁUSZCZOWEJ ZWIERZĄT ŁOWNYCH

### CHLORINATED HYDROCARBONS IN FAT OF GAME ANIMALS

Alicja Niewiadowska, Tomasz Kiljanek, Stanisław Semeniuk, Jan Żmudzki

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Farmakologii i Toksykologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: niewiado@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Badania zwierząt łownych są dobrym wskaźnikiem skażeń środowiska i ewentualnego zagrożenia toksykologicznego dla konsumentów dzicyzny.

**Cel badań:** Ocena występowania i zawartości pestycydów chloroorganicznych oraz wskaźnikowych kongenerów PCB w tkance tłuszczowej dzików, saren i jeleni z różnych regionów kraju.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki tkanki tłuszczowej od 84 dzików, 32 jeleni i 25 saren odłowionych w czterech przemysłowych regionach uznawanych za tereny o znacznym skażeniu środowiska, tj. Górnośląski Okręg Przemysłowy (okolice Miasteczka Śląskiego i Tarnowskich Gór), Legnicko-Głogowski Okręg Miedziowy, Zagłębie Bełchatowskie i Zagłębie Turoszowskie oraz w regionie kontrolnym Pojezierza Mazurskiego.

Badania zawartości pestycydów chloroorganicznych (HCB,  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH, p,p'-DDE, p,p'-DDD, o,p'-DDT, p,p'-DDT) oraz wskaźnikowych kongenerów PCB (PCB nr 28, 52, 101, 138, 153, 180) wykonywano metodą kapilarnej chromatografii gazowej z detekcją wychwytu elektronów.

**Wyniki i omówienie:** W badanych próbkach tkanki tłuszczowej zwierząt łownych stwierdzono powszechne występowanie pozostałości DDT i jego metabolitów. Pozostałości p,p'-DDE występowały we wszystkich próbkach, p,p'-DDT w 53% a p,p'-DDD w 44% próbek. Zawartość niskich stężeń HCB stwierdzono w 74% zwierząt a izomerów HCH tylko w kilku % próbek.

Średnie stężenie  $\Sigma$ -DDT w tkance tłuszczowej wynosiło 157  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , w tym p,p'-DDE 129  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , p,p'-DDT 22  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i p,p'-DDD 7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Wartości mediany wynosiły 57  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a 95-percentyla 638  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Wyniki próbek jednostkowych gromadziły się w przedziale od 0,1 do 2490  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Udział procentowy p,p'-DDE w sumarycznym DDT wynosił 82%.

Najwyższe poziomy pestycydów wykryto w tkankach dzików. Średnie stężenie  $\Sigma$ -DDT w tłuszczu dzików wynosiło 241  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (mediana 140  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i 95-percentyl 795  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). W tkance tłuszczowej saren stężenia były kilkakrotnie niższe i liczyły średnio 37  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . W tłuszczu jeleni zawartość DDT układała się na podobnym poziomie jak u saren (średnia 32  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

W tkankach dzików z regionów przemysłowych wykrywano kilkakrotnie wyższe stężenia DDT (średnia 309  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) niż u dzików z regionu mazurskiego (średnia 71  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Najwyższe zawartości DDT stwierdzono w tłuszczu dzików z Legnicko-Głogowskiego Okręgu Miedziowego. W tkankach dzików z regionów przemysłowych wykazano przekroczenia MRL ustalonych dla zwierząt hodowlanych (Rozporządzenie WE nr 396/2005). Były to stężenia DDT powyżej 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  w tłuszczu 3 dzików, gamma-HCH (wynik > 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) i przekroczenie dla  $\beta$ -HCH (> 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

Obecność PCB wykryto w 98,6% badanych próbkach. Wśród badanych kongenerów najczęściej występowały PCB 153, 138 i 180 (> 95%). Średnie stężenie  $\Sigma$ -PCB (suma PCB nr 28, 52, 101, 138, 153 i 180) wynosiło 13,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , w zakresie wyników jednostkowych od 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  do 164  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Udział procentowy PCB 153, 138 i 180 w sumarycznym PCB kształtował się w granicach 98%. Średnie stężenie  $\Sigma$ -PCB w tłuszczu dzików wynosiło 15,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , w tłuszczu jeleni 12,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a w tłuszczu saren 10,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

W tkankach dzików z regionów przemysłowych wykrywano kilkakrotnie wyższe stężenia PCB niż u dzików z regionu mazurskiego. W tkankach zwierząt łownych stwierdzono przekroczenia najwyższych dopuszczalnych poziomów ustalonych dla bydła, świń i drobiu (Rozporządzenie Komisji UE nr 1259/2011). Były to stężenia  $\Sigma$ -PCB powyżej 40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  w tłuszczu 2 jeleni i 6 dzików z regionów przemysłowych.

Badania realizowane w związku z projektem rozwojowym NCBR Nr 12-0127-10.



## ZAWARTOŚĆ PESTYCYDÓW CHLOROORGANICZNYCH I KONGENERÓW POLICHLOROWANYCH BIFENYLI W RYBACH SŁODKOWODNYCH W POLSCE

### LEVELS OF ORGANOCHLORINE PESTICIDES AND POLYCHLORINATED BIPHENYLS IN FRESHWATER FISH IN POLAND

Alicja Niewiadowska, Tomasz Kiljanek, Stanisław Semeniuk, Jan Żmudzki

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Farmakologii i Toksykologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: niewiado@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Głównym źródłem narażenia na chlorowane węglowodory aromatyczne dla populacji generalnej jest żywność pochodzenia zwierzęcego, której udział w całkowitym pobraniu stanowi nawet 90%. Na uwagę zasługują ryby morskie i słodkowodne oraz inne produkty akwakultury, które zawierają znacznie wyższe stężenia związków chloroorganicznych niż inne rodzaje żywności.

**Cel badań:** Ocena występowania i zawartości pestycydów chloroorganicznych oraz kongenerów PCB w tkankach wolno żyjących ryb słodkowodnych.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły 122 próbki tkanki mięśniowej pobrane od ryb słodkowodnych drapieżnych i wszystkożernych odłowionych na różnych akwenach kraju (Wisła na wysokości Krakowa i Warszawy, Odra na wysokości Wrocławia i ujścia Warty, Mazurskie Jezioro Łąskie, Dunajec – okolice Zbiornika Rożnowskiego, Zbiornik Elektrowni Rybnik, rzeki Wkra – oddziaływanie ferm drobiowych i Brda – oddziaływanie ferm trzody chlewnej). Głównym obiektem badań były próbki leszcza (34), płoci (26), szczupaka (18) i sandacza (17). Inne badane gatunki ryb to okoń, sum, boleń, kleń, sumik karłowaty, karaś, krąp i ukleja.

Badania zawartości pestycydów chloroorganicznych (HCB,  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH, p,p'-DDE, p,p'-DDD, o,p'-DDT, p,p'-DDT) oraz wskaźnikowych kongenerów PCB (PCB nr 28, 52, 101, 138, 153, 180) wykonywano metodą kapilarnej chromatografii gazowej z detekcją wychwytu elektronów.

**Wyniki i omówienie:** W badanych próbkach tkanki mięśniowej ryb stwierdzono powszechne występowanie pozostałości DDT i jego metabolitów. Pozostałości p,p'-DDE występowały we wszystkich próbkach ryb, a p,p'-DDD w 96% próbek. Obecność p,p'-DDT wykryto w 64% a jego metabolit o,p'-DDT w 41% próbek. Zawartość niskich stężeń HCB wykryto w 60% ryb a izomerów HCH w około 30% próbek.

Średnie stężenie  $\Sigma$ -DDT w tkance mięśniowej ryb wynosiło 48,8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , w tym p,p'-DDE 29  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , p,p'-DDD 15,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , p,p'-DDT 1,4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i o,p'-DDT 2,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Wartości mediany wynosiły 16,8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 90-percentyla 116  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , a 95-percentyla 278  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Wyniki próbek jednostkowych gromadziły się w przedziale od 1,8 do 424  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Udział procentowy p,p'-DDE w sumarycznym DDT wynosił około 60%.

Obecność PCB wykryto we wszystkich badanych próbkach. Wśród badanych kongenerów PCB 153 i 138 występowały we wszystkich próbkach, a PCB 101 i 180 w ponad 99% ryb. Pozostałe kongenery wykryto w ponad 65% ryb. Średnie stężenie  $\Sigma$ -PCB (suma kongenerów nr 28, 52, 101, 138, 153 i 180) wynosiło 27,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  mięśni, w zakresie wyników jednostkowych od 0,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  do 790  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Wartości mediany to 5,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 90-percentyla 54  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a 95-percentyla 94  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Udział procentowy PCB 153, 138 i 180 w sumarycznym PCB wynosił około 80%.

W badaniach potwierdzono występowanie znacznych różnic w poziomach stężeń pestycydów chloroorganicznych i PCB w rybach z różnych regionów kraju. Najwyższe poziomy badanych związków wykryto w tkankach ryb (leszcz, płoć, kleń) z okolic Krakowa. Stężenia u ryb z Odry, Wisły na wysokości Warszawy oraz Zbiorników Rożnowskiego i Rybnickiego były kilka razy niższe. Najniższe stężenia wykryto w tkankach ryb z Jeziora Łąskiego oraz z Brdy i Wkry. Przekroczenia dopuszczalnych poziomów PCB stwierdzono tylko w 3 próbkach ryb z Wisły z okolic Krakowa.

Wskutek zanieczyszczenia środowiska ryby słodkowodne wolno żyjące mogą zawierać podwyższone poziomy PCB, pestycydów chloroorganicznych i innych pozostałości chemicznych. Oznaczone stężenia badanych związków nie stanowią jednak zagrożenia dla zdrowia konsumentów.

Badania wykonywane w związku z projektem rozwojowym NCBR Nr 12-0127-10.



## WPŁYW OZONOWANIA NA REDUKCJĘ GRZYBÓW PLEŚNIOWYCH W ZIARNIE PSZENICY

## EFFECT OF OZONATION ON THE REDUTION OF FUNGI IN WHEAT GRAIN

Bożena Nowakowicz-Dębek<sup>1</sup>, Henryk Krukowski<sup>1</sup>, Hanna Bis-Wencel<sup>1</sup>, Beata Trawińska<sup>1</sup>,  
Mieczysław Bojarczyk<sup>2</sup>, Bartłomiej Pawłowski<sup>1</sup>, Uwe Mario Myer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, e-mail: bożena.nowakowicz@up.lublin.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Ogólnej Uprawy Roli i Roślin, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

**Wstęp:** Rosnące wymagania w stosunku do jakości oraz bezpieczeństwa surowca, jakim jest ziarno zbóż, prowadzą do poszukiwań coraz to nowszych oraz lepszych sposobów jego odkażania. Dlatego też przeprowadzono badania, w celu określenia wpływu ozonowania na zdolność redukcji grzybów pleśniowych ziarna pszenicy.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło ziarno pszenicy odmiany Akter. Ziarno poddano procesowi ozonowania generatorem ozonu przez 0; 0,5; 3; 6 i 9 godzin. Tak przygotowane próbki poddano badaniom mikrobiologicznym na obecność ogólnej liczby grzybów pleśniowych. Badaniom poddano całe oraz zmielone ziarna po procesie ozonowania. Posiewy wykonano na pożywce agarowej peptonowo-glukozowej z różem bengalskim według Martina zgodnie z normą PN-R-64791. Oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach, a wyniki po inkubacji przedstawiono jako średnią wyrażającą ilość grzybów w postaci jednostek tworzących kolonie w odniesieniu do 1 g badanego materiału (jtk/g).

**Wyniki i omówienie:** Alternatywą dla powszechnie stosowanych środków dezynfekcyjnych jest zastosowanie ozonu w postaci gazowej. Silne jego właściwości utleniające wynikają z jego wysokiego potencjału oksydacyjno-redukcyjnego oraz współczynnika siły dezynfekcji (Ct) w porównaniu z innymi powszechnie stosowanymi środkami.

W wyniku przeprowadzonych badań, zarówno w próbkach całego ziarna, jak i zmielonego po procesie ozonowania, zaobserwowano zmniejszenie ilości grzybów pleśniowych w stosunku do próby kontrolnej. Na podstawie uzyskanych wyników wyliczono skuteczność ozonu w redukcji grzybów pleśniowych zasiedlających ziarno pszenicy. Otrzymane wyniki badań są potwierdzeniem utleniających właściwości ozonu oraz jego skuteczności w stosunku do niszczenia grzybów pleśniowych. Gaz ten działa destrukcyjnie i opóźnia rozwój niepożądanych mikroorganizmów, które zasiedlają powierzchnie ziaren. Stwarza to możliwość wydłużenia okresu przechowywania ziarna, jak również bezpiecznej jego konsumpcji.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Broda M., Grajek W., 2009. Mikroflora ziaren zbóż i metody redukcji skażenia mikrobiologicznego. *Post. Nauk Rol.*, 2.
- [2] Dzwolak W., 2008. Zamiennik dla chlorków. Ozon w produkcji bezpiecznej żywności. *Bezpieczeństwo i Higiena Żywności*, 7.
- [3] Krosowiak K., Śmigielski K., Dziugan P., 2007. Zastosowanie ozonu w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.*, 11, 26–29.
- [4] Kwiatek K., 2007. Analiza zagrożeń i analiza ryzyka w zapewnieniu bezpieczeństwa pasz. *Pasze Przem.* 5/6, 11–12.
- [5] Naito S., Nanba Y., 1987. Studies on Utilization of Ozone in Food Preservation. Part IV. The Effect of Ozone Treatment on Thiamin and Riboflavin Contents of Cereal Grains, Cereal Grain Powders, Peas, Beans and Whole Spices. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*.
- [6] Saeger S., Sibanda L., Paepens C., Lobeau M., Delmulle B., Barna-Vetro I., Van Petegharm C., 2006. Novel developments in rapid mycotoxin detection. *Mycotoxin Res.*, 22, 2, 100–104.
- [7] Singh S., Fan M., Brown R.C., 2008. Ozone treatment of process water from a dry-mill ethanol plant. *Bioresour Technol.*, 99(6), 1801–1805.





## OCENA SKUTECZNOŚCI HIGIENIZACYJNEJ FERMENTACJI METANOWEJ GNOJOWICY ŚWIŃSKIEJ NA PODSTAWIE CIĄGŁEGO MONITORINGU MIKROBIOLOGICZNEGO

### EVALUATION OF HYGIENIZATION EFFECTIVENESS OF SWINE SLURRY ANAEROBIC DIGESTION BASED ON CONTINUOUS MICROBIOLOGICAL MONITORING

Zbigniew Paluszak, Krzysztof Skowron, Karolina Jadwiga Skowron

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii,  
Katedra Mikrobiologii, ul. Bernardyńska 6-8, 85-029 Bydgoszcz, e-mail: paluszak@utp.edu.pl

**Wstęp:** Rolnicze wykorzystanie gnojowicy może stwarzać problemy sanitarno-higieniczne, związane z potencjalnym występowaniem w niej patogenów oraz jaj pasożytów. W związku z powyższym wskazana jest higienizacja gnojowicy. Jedną z metod jest fermentacja metanowa, która pozwala na uwolnienie energii zawartej w gnojowicy w postaci biogazu, umożliwia wytworzenie stabilnego i bezpiecznego nawozu oraz zapewnia inertność gnojowicy wobec środowiska [1]. Ocena skuteczności higienizacyjnej fermentacji wymaga jednak ciągłego, mikrobiologicznego monitoringu procesu, który aktualnie nie jest prowadzony.

**Cel badań:** Opracowanie oraz ocena przydatności metody ciągłego, mikrobiologicznego monitoringu efektywności higienizacyjnej fermentacji metanowej z wykorzystaniem bezpiecznych nośników mikrobiologicznych i parazytologicznych, które eliminują ryzyko wtórnej kontaminacji wsadu fermentatora.

**Materiał i metody:** Doświadczenie przeprowadzono w skali technicznej w 4 powtórzeniach. Materiał do badań stanowił typowy wsad na bazie gnojowicy świńskiej stosowany w biogazowni rolniczej. W analizach wykorzystano pałeczki *Salmonella* Senftenberg  $W_{775}$   $H_2S$ -ujemne oraz jaja *Ascaris suum*. Przygotowaną zawiesinę bakterii o koncentracji  $4,5 \times 10^9$  komórek  $\times ml^{-1}$  odwirowywano, a osad bakteryjny zawieszano w cieczy przedfermentacyjnej i wlewano do nośników typu Filter-Sandwich. Wyciśnięte z macic jaja *Ascaris suum* wprowadzono do soli fizjologicznej, uzyskując zawiesinę o koncentracji  $1-6 \times 10^3$  jaj  $\times ml^{-1}$ , którą rozlewano po 1 ml do perlonych woreczków. Nośniki Filter-Sandwich oraz woreczki perlonowe umieszczano w rurowej kapsule ochronnej i wprowadzano do fermentatora. Liczbę pałeczek *Salmonella* Senftenberg  $W_{775}$  ustalono, opierając się na metodzie NPL z wykorzystaniem standardowych podłoży mikrobiologicznych. Finalna identyfikacja polegała na zastosowaniu surowic diagnostycznych [2]. Odzyskiwane z woreczków jaja inkubowano przez 28 dni w  $28^\circ C$ , a następnie oznaczano odsetek jaj inwazyjnych metodą zliczeń mikroskopowych. Na podstawie równań regresji wyliczono parametry opisujące kinetykę inaktywacji pałeczek *Salmonella* oraz jaj *A. suum*.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki dowodzą, że termofilna fermentacja metanowa pozwala na eliminację pałeczek *Salmonella* Senftenberg  $W_{775}$  oraz inaktywację jaj *A. suum* już w pierwszej dobie procesu. Ustalony dla bakterii *Salmonella* Senftenberg  $W_{775}$  teoretyczny czas przeżycia wahał się w granicach 12,46–20,27 godz., czas dziesiątej eliminacji kształtował się na poziomie 1,42–2,35 godz., a tempo eliminacji wynosiło 0,43–0,70 jednostki  $\log \times godz.^{-1}$ . Z kolei maksymalny teoretyczny czas zachowania inwazyjności przez jaja *A. suum* mieścił się w granicach 7,74–8,17 godz., czas dziesiątej eliminacji był równy 0,06 godz., a tempo inaktywacji wynosiło 16,20–16,64  $\% \times godz.^{-1}$ . Rezultaty z kolejnych powtórzeń wykazały zróżnicowanie przeżywalności organizmów testowych nawet pomimo realizacji procesu w tej samej biogazowni, opierając się na wsadzie o praktycznie identycznym składzie oraz z wykorzystaniem tych samych szczepów bakterii i partii jaj. Wskazuje to jednoznacznie na konieczność prowadzenia ciągłego monitoringu mikrobiologicznego fermentacji metanowej, a zaproponowana metoda jest adekwatna do tego celu.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Burton C.H., Turner C., 2003. Manure Management. Treatment strategies for sustainable agriculture, 2nd Edition. Silsoe Research Institute. West Park, Silsoe, Bedford, UK.
- [2] Diagnostyczny schemat antygenowej budowy pałeczek *Salmonella* według White'a – Kauffmana – Le Minora (wybrane typy serologiczne *S. enterica*) – stan na dzień 1 stycznia 2007 r.



## ZARODEK KURZY JAKO MODEL W BADANIACH WPŁYWU PÓL ELEKTROMAGNETYCZNYCH EMITOWANYCH PRZEZ TELEFONIĘ KOMÓRKOWĄ NA POZIOM HORMONÓW TARCZYCY

### CHICKEN EMBRYO, AS A MODEL IN RESEARCH ON INFLUENCE OF ELECTROMAGNETIC FIELDS EMITTED BY MOBILE PHONE ON THYROID HORMONE LEVELS

Krzysztof Pawlak<sup>1</sup>, Andrzej Sechman<sup>2</sup>, Barbara Tombarkiewicz<sup>1</sup>, Jerzy Niedziółka<sup>1</sup>

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, <sup>1</sup>Zespół Higieny Zwierząt i Środowiska Katedra Hodowli Drobiu, Zwierząt Futerkowych i Zoohigieny, <sup>2</sup>Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, e-mail: rzpawlak@cyfronet.pl

**Wstęp:** Wraz z rozwojem telefonii komórkowej nastąpił wzrost poziomu sztucznego pola elektromagnetycznego (PEM) w środowisku naturalnym. Dotychczasowe badania nie dają jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, w jakim stopniu PEM oddziałuje na organizmy żywe. Ze względu na duże tempo i specyfikę rozwoju, a także stosunkowo dokładnie poznany przebieg procesu embriogenezy zarodek kurzy jest często i chętnie wykorzystywany jako model w badaniach fizjologicznych.

**Cel pracy:** Analiza wpływu pól elektromagnetycznych o częstotliwości 1800 Mhz na poziom trójiodotyroniny i tyroksyny we krwi zarodków kurzych.

**Materiał i metody:** Do badań użyto 240 jaj kurzych inkubowanych w inkubatorach laboratoryjnych zgodnie z obowiązującymi normami. Jaja zostały podzielone na 3 równe liczebnie grupy badawcze. W grupie I (kontrolnej) rozwój zarodków odbywał się w standardowo wyposażonym inkubatorze, w grupie II (ślepej) w inkubatorze wyposażonym w wyłączony generator pola elektromagnetycznego a w grupie III (eksperymentalnej) zarodki umieszczone zostały w inkubatorze wyposażonym we włączony generator pola elektromagnetycznego. Generator ten w ciągu całego okresu inkubacji emitował 10 razy dziennie przez 4 minuty pole o częstotliwości 1800 Mhz.

W celu oznaczenia poziomu tyroksyny i trójiodotyroniny od 10 zarodków z każdej grupy badawczej w 18. i 21. dniu inkubacji pobierana została krew. W odwirowanym osoczu hormony tarczycy oznaczone zostały metodą radioimmunologiczną z użyciem specjalnie do tego przeznaczonych kitów produkcji BRAHMS (Niemcy).

**Wyniki i omówienie:** W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że stężenie tyroksyny jak i trójiodotyroniny u zarodków narażonych na działanie pola elektromagnetycznego zarówno w 18., jak i 21. dniu inkubacji było zawsze niższe u niż u zarodków z grupy ślepej i kontrolnej. Różnice te były większe w 21. niż w 18. dniu inkubacji. W przypadku tyroksyny różnice między grupą III a II i I były statystycznie nieistotne, natomiast dla trójiodotyroniny w 18. i 21. dniu inkubacji różnice te były statystycznie istotne na poziomie  $p < 0,01$ .

Podobnie jak w prezentowanych badaniach spadek poziomu tyroksyny i trójiodotyroniny u szczurów poddanych działaniu pola o częstotliwości 900 obserwowali Koyu i wsp. [1]. Natomiast badania Mortavazi i wsp. [1] nie wykazały u ludzi wpływu emisji pól elektromagnetycznych o częstotliwościach emitowanych przez telefon komórkowy na poziom  $T_3$ .

#### Piśmiennictwo:

- [1] Koyu A., Cesur G., Ozguner F., Akdogan M., Mollaoglu H., Ozen S., 2005. Effects of 900 MHz electromagnetic field on TSH and thyroid hormones in rats. *Toxicol Lett.*, 4, 157(3), 257–62.
- [2] Mortavazi S., Habib A., Ganj-Karami A., Samimi-Doost R., Pour-Abedi A., Babaie A, 2009. Alterations in TSH and Thyroid Hormones following Mobile Phone Use. *Oman Med J.*, 24(4), 274–278.



## ZOOHIGIENICZNE UWARUNKOWANIA ZABURZEŃ ZDROWIA KONI

### ENVIRONMENTAL CONDITIONING OF HORSES HEALTH DISORDERS

Paweł Różański

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, e-mail: pawel.rozanski@up.lublin.pl

**Wstęp:** Udomowienie koni datuje się na ok. 7000 lat p.n.e. Od tamtej pory konie poddawane były wielu działaniom, które miały na celu stworzenie zwierzęcia odpowiedniego do konkretnych zadań. Proces udomowienia wpłynął więc na wiele cech kształtujących obraz współczesnego konia.

Zabiegom tym towarzyszyła konieczność umieszczenia zwierząt w bliskim sąsiedztwie człowieka. Ewolucję zatem przeszły również systemy utrzymania zwierząt – od ograniczonych pastwisk, przez różnego rodzaju stajnie, do indywidualnych boksów. Każdy z tych systemów utrzymania ma swoje zalety i wady. Wszystkim kolejnym zmianom zawsze towarzyszył jednak wspólny cel, którym była poprawa warunków obsługi koni przez człowieka. Znamienne jest, że ta swoista „ewolucja stajenna” odbyła się kosztem zwierząt, gdyż obciążenie nowymi czynnikami środowiskowymi przesunięte zostało na konie.

Analizie porównawczej poddano różne systemy utrzymania koni, ukazując wpływ poszczególnych elementów środowiska hodowlanego na zwierzęta.

**Materiał i metody:** Materiałem do badań były dane uzyskane z inwentaryzacji obiektów stajennych oraz przypadki najczęściej zgłaszanych zaburzeń zdrowotnych u koni różnych ras wykorzystywanych w sporcie profesjonalnym, amatorskim oraz rekreacyjnie.

**Wyniki i omówienie:** Analiza materiału badawczego wykazała związki między systemem utrzymania i najczęściej notowanymi schorzeniami koni. Powyższe obserwacje pozwalają jednocześnie przewidywać z dużym prawdopodobieństwem zaburzenia zdrowia, które są konsekwencją sposobu utrzymywania i użytkowania koni oraz określić sposób prowadzenia profilaktyki tych schorzeń.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Budiansky S., 1998. The Nature of Horses Their Evolution, Intelligence and Behaviour. Phoenix, London.
- [2] Clarke A.F., 1987. A review of environmental and host factors in relation to equine respiratory disease: Equine Vet. J. Sep., 19(5), 435–441.
- [3] Clegg P.D., 2011. Musculoskeletal disease and injury, now and in the future. Part 1: fractures and fatalities: Equine Vet. J. 2011 Nov, 43(6), 643–9. doi: 10.1111/j.2042-3306.2011.00457.x. Epub Sep 21.
- [4] Crowell-Davis S.L., 2008. Understanding behavior: animal behavior and animal welfare: Compend. Contin. Educ. Vet. Jul;30(7), 372–379.
- [5] Millerick-May M.L., Karmaus W., Derksen F.J., Berthold B., Holcombe S.J., Robinson N.E., 2012. Local airborne particulate concentration is associated with visible tracheal mucus in Thoroughbred racehorses: Equine Vet J. Apr 12. doi: 10.1111/j.2042-3306.2012.00568.x.
- [6] Odendaal J.S., 1994. Veterinary ethology and animal welfare: Rev. Sci. Tech. Mar, 13(1), 261–75.
- [7] Seedorf J., Schröder M., Köhler L., Hartung J. 2007. Suitability of biocompost as a bedding material for stabled horses: respiratory hygiene and management practicalities: Equine Vet J. Mar, 39(2), 129–135.
- [8] Winkelsett S., Vervuert I., 2008. Animal welfare in prevention and therapy of laminitis: Dtsch Tierarztl Wochenschr. 2008 Mar, 115(3), 106–113.



## WARUNKI MIKROKLIMATYCZNE W POMIESZCZENIU INWENTARSKIM FERMY DANIELI EUROPEJSKICH (*DAMA DAMA*)

### MICROCLIMATIC CONDITIONS IN THE ANIMALS HOUSE ON THE EUROPEAN FALLOW DEER (*DAMA DAMA*) FARM

Janina Sowińska<sup>1</sup>, Paweł Janiszewski<sup>2</sup>, Dorota Witkowska<sup>1</sup>, Marek Bogdaszewski<sup>3</sup>,  
Tomasz Mituniewicz<sup>1</sup>, Anna Wójcik<sup>1</sup>, Agnieszka Kwiatkowska-Stenzel<sup>1</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, <sup>1</sup>Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, <sup>2</sup>Katedra Hodowli Zwierząt Futerkowych i Łowiectwa, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn  
<sup>3</sup>Stacja Badawcza Instytutu Parazytologii Polskiej Akademii Nauk w Kosewie Górnym, 11-700 Mrągowo,  
e-mail: janina.sowinska@uwm.edu.pl

**Wstęp:** W warunkach polskich w rocznym cyklu hodowli fermowej jeleniowatych wyróżnia się okres pastwiskowy (maj – październik/listopad) oraz okres zimowania, w którym danieli mogą być utrzymywane grupowo w pomieszczeniach inwentarskich. Stanowi to ochronę przed niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi w okresie zimy ograniczającą upadki oraz umożliwiającą stały przyrost masy ciała młodych zwierząt. Zgodnie z obowiązującym rozporządzeniem (Dz. U. Nr 116, poz. 778) w tym okresie należy zwierzętom zapewnić odpowiednią powierzchnię oraz właściwe warunki mikroklimatyczne.

**Cel badań:** Ocena warunków mikroklimatycznych w pomieszczeniu przeznaczonym do utrzymania danieli w okresie zimowym.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w miesiącach: grudzień – marzec na fermie jeleniowatych Stacji Badawczej Instytutu Parazytologii PAN w Kosewie Górnym, gdzie w pomieszczeniu zbudowanym z desek drewnianych o powierzchni 126 m<sup>2</sup> i wysokości 3,5 m utrzymywano grupowo 80 danieli (samców i samic). Zwierzęta w momencie rozpoczęcia okresu zimowania były w wieku około 6 miesięcy. Nad sufitem z belek drewnianych mieściło się poddasze użytkowe, na którym przechowywano siano. Wzdłuż południowej ściany długiej, na wysokości 3 m, znajdowała się szczelina o szerokości 0,5 m umożliwiająca dostęp światła dziennego. Temperatura i wilgotność względna powietrza wewnątrz i na zewnątrz pomieszczenia były rejestrowane w sposób ciągły przez termohigrometry elektroniczne. Pomiaru momentalne składu chemicznego powietrza wykonywano mobilnym urządzeniem Gasmeter DX – 4030 (metoda FT-IR). Na podstawie pomiarów natężenia światła dziennego wewnątrz i na zewnątrz pomieszczenia obliczono współczynnik oświetlenia dziennego (WOD).

**Wyniki i omówienie:** W okresie badawczym stwierdzono duże wahania temperatury zewnętrznej: od -25,2 do 15,2°C, przy średniej za cały okres -2,93°C. W pomieszczeniu, w którym utrzymywano danieli, także wystąpiły duże wahania temperatury. Jakkolwiek były one zależne od przebiegu krzywej temperatur zewnętrznych, to wartości tego parametru wewnątrz były wyższe, stwarzając korzystniejsze warunki termiczne w warunkach niskich temperatur zewnętrznych. Średnia temperatura powietrza w pomieszczeniu w całym okresie badawczym wyniosła -1,12°C, z zakresem wahań od -20,1 do 17,8°C. Średnia wilgotność względna powietrza w pomieszczeniu w całym okresie badawczym wynosiła 91,4% (50,2 – 99,8%) i była wyższa w porównaniu ze średnią wilgotnością powietrza na zewnątrz: 82,3% (45,6–97,6%). WOD o wartości 0,78% świadczył o wystarczającym dostępie światła dziennego przez szczelinę w ścianie, natomiast jej oszklenie umożliwiłoby lepszą ochronę przed niskimi temperaturami zewnętrznymi. Stężenie NH<sub>3</sub> (0,43 ppm) i CO<sub>2</sub> (410 ppm) w powietrzu było niższe od wartości dopuszczalnych. Ponadto w powietrzu zidentyfikowano, aczkolwiek w niewielkich stężeniach, obecność: metanu (1,75 ppm), podtlenku azotu (0,42 ppm), 1,2-dichloroetanu (1,06 ppm), dichlorometanu (1,19), etylenu (1,88 ppm), 1,1,1-trichloroetanu (1,16 ppm), difluorku tlenu (4,18 ppm), chlorku winylu (4,81 ppm) oraz akrylonitrylu (1,64 ppm).

#### Piśmiennictwo:

- [1] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 czerwca 2010 r. w sprawie minimalnych warunków utrzymania gatunków zwierząt gospodarskich innych niż te, dla których normy ochrony zostały określone w przepisach Unii Europejskiej (Dz. U. Nr 116, poz. 778).



## PARAMETRY JAKOŚCIOWE KOŚCI KURCZĄT WOLNO ROSNĄCYCH W RÓŻNYCH SYSTEMACH CHOWU

### BONE QUALITY PARAMETERS OF SLOW-GROWING CHICKENS IN DIFFERENT REARING

Tomasz Szara<sup>1</sup>, Monika Michalczuk<sup>2</sup>, Bernard Turek<sup>3</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie; <sup>1</sup>Katedra Nauk Morfologicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, e-mail: tomasz\_szara@sggw.pl; <sup>2</sup>Katedra Szczegółowej Hodowli Zwierząt, Wydział Nauk o Zwierzętach; <sup>3</sup>Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej

**Cel badań:** Określenie wpływu warunków utrzymania kurcząt na jakość tkanki kostnej i cechy osteometryczne kości udowej.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 935 kurczętach wolno rosnących mieszańcach Cobb x Zk, podzielonych na dwie grupy: kontrolną (K) – kurczęta odchowywano na ściółce bez możliwości korzystania z wybiegów i doświadczalną (W) – kurczęta odchowywano na ściółce, ale od 4. tygodnia życia miały dostęp do wybiegów. Kurczęta z każdej grupy były rozmieszczone na pięciu przedziałach (powtórzeniach). W okresie odchowu w doświadczeniu kurczęta z każdej grupy żywiono mieszankami (zbożowo-sojowymi) o tej samej wartości odżywczej. Po zakończeniu odchowu (w 63. dniu) do uboju wybrano z każdej grupy po 10 kogutów i 10 kur o masie zbliżonej do średniej w danej grupie. Wypreparowano lewą kość udową. Kości oczyszczono z tkanek miękkich, zważono i zmierzono ich długość oraz szerokość trzonu suwmiarką elektroniczną. Następnie wykonano radiogramy kości w projekcji AP, umieszczając na każdej kliszy klin wzorcowy wykonany z aluminium. Na tej podstawie określano gęstość mineralną kości.

**Wyniki i omówienie:** Analiza cech osteometrycznych nie wykazała istotnie statystycznych różnic w udziale kości udowej w masie ciała kurcząt w zależności od sposobu chowu. Nie wykazano różnic długości i szerokości trzonu kości udowej pobranej od kurcząt z doświadczenia w zależności od warunków utrzymania ptaków.

Gęstość mineralna tkanki kostnej była najwyższa u kogutów korzystających z wybiegu. Nie stwierdzono statystycznych różnic w gęstości mineralnej kości kogutów w zależności od warunków utrzymania. Wykazano pozytywny wpływ korzystania wybiegu przez kury, cecha ta została potwierdzona statystycznie ( $P < 0,01$ ).

*“Research was realized within the project “BIOFOOD – innovative, functional products of animal origin” no. POIG.01.01.02-014-090/09 co-financed by the European Union from the European Regional Development Fund within the Innovative Economy Operational Programme 2007–2013”.*





## PIERWIASTKI TOKSYCZNE W TKANKACH WOLNO ŻYJĄCYCH RYB SŁODKOWODNYCH W POLSCE

### TOXIC ELEMENTS IN TISSUES OF FREE-LIVING FRESHWATER FISHES IN POLAND

Józef Szkoda, Jan Żmudzki, Agnieszka Nawrocka, Mirosława Kmiecik

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Farmakologii i Toksykologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: szkoda@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Problem skażenia ryb i innych bytujących w wodzie organizmów żywych pierwiastkami toksycznymi wynika z zanieczyszczenia wód w wyniku naturalnych procesów uwalniania się niebezpiecznych związków zawartych w glebie i powietrzu, a także z zanieczyszczeń spowodowanych przez człowieka [1, 2].

**Cel badań:** Określenie zawartości toksycznych pierwiastków w tkankach ryb (wszystkożernych i drapieżnych) odłowionych w wybranych rzekach i jeziorach Polski.

**Materiał i metody:** W pierwszym etapie przeprowadzono badania zawartości ołowiu, kadmu, rtęci, arsenu, chromu oraz cynku, żelaza i miedzi w tkankach różnych gatunków ryb słodkowodnych (mięśnie, wątroba). Przy wyborze do badania różnych gatunków ryb brano pod uwagę oddziaływanie lokalnego środowiska, a także sposób ich odżywiania. Materiał do badań stanowiły całe ryby (wszystkożerne i drapieżne) odłowione w wybranych rzekach i jeziorach (Jezioro Łańskie, rzeka Brda – oddziaływanie ferm trzody chlewnej, rzeka Wkra – oddziaływanie ferm drobiowych, Dunajec w okolicach Zbiornika Rożnowskiego, Wisła na wysokości Krakowa i Warszawy, Odra na wysokości Wrocławia i ujścia Warty, Zbiornik Elektrowni Rybnik).

Próbki ryb analizowano metodami z wykorzystaniem technik absorpcyjnej spektrometrii atomowej. Stosowane w tych badaniach procedury oznaczenia pierwiastków toksycznych zostały zwalidowane, a także poddane procesowi akredytacji.

**Wyniki i omówienie:** W mięśniach ryb najwyższe średnie stężenia ołowiu stwierdzono w rybach odłowionych z Wisły w okolicy Krakowa (wszystkożerne – 0,054 mg/kg; drapieżne – 0,049 mg/kg) i Warszawy (wszystkożerne – 0,031 mg/kg; drapieżne – 0,033 mg/kg) oraz ujścia Warty (wszystkożerne – 0,058 mg/kg; drapieżne – 0,078 mg/kg). Były one kilkakrotnie wyższe od zawartości tego pierwiastka w rybach pochodzących z innych badanych regionów kraju, ale nie przekraczały limitu dopuszczalnego dla tego pierwiastka, który wynosi 0,30 mg/kg. Średnie stężenie kadmu w mięśniach ryb wszystkożernych jak i drapieżnych w większości badanych próbek kształtowało się na poziomie niskich tysięcznych części mg/kg i było wielokrotnie niższe od dopuszczalnego limitu, który wynosi 0,050 mg/kg. Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) NR 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. dopuszczalny poziom rtęci w rybach określony został na poziomie 0,50 mg/kg. W żadnej z analizowanych próbek ryb wartość ta nie została przekroczona. Średnie stężenia arsenu i chromu w mięśniach ryb kształtowały się na poziomie setnych i dziesiątych części mg/kg. Stężenia pierwiastków niezbędnych, tj. cynku, żelaza i miedzi nie budziły zastrzeżeń higieniczno-toksykologicznych i były podobne do wartości stwierdzanych przez innych autorów [3]. Badania poszerzone o oznaczenie pierwiastków w wodzie i osadach dennych będą kontynuowane w latach 2012 i 2013.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Mendil D., Uluözlü Ö.D., 2007. Determination of trace metal in sediment and five fish from lakes in Tokat, Turkey: Food Chem., 101, 739–745.
- [2] Chale F.M.M., 2002. Trace metal concentration in water, sediments and fish tissue from Lake Tanganyika: Sci. Total Environ., 299: 115–121.
- [3] Łuczyńska J., Tońska E., Łuczyński M.J., 2009. Essential mineral components in the muscle of six freshwater fish from the Mazurian Great Lakes (northeastern Poland): Arch. Pol. Fish, 17, 171–178.

Badania wykonywane w związku z projektem rozwojowym NCBR Nr 12-0127-10.



## ZAWARTOŚĆ OŁOWIU, KADMU I RTĘCI W TKANKACH ZWIERZYNY ŁOWNEJ

### CONCENTRATION OF LEAD, CADMIUM AND MERCURY IN TISSUES OF GAME ANIMALS

Józef Szkoda<sup>1</sup>, Maciej Durkalec<sup>2</sup>, Jan Żmudzki<sup>1</sup>, Roman Kołacz<sup>2</sup>, Sebastian Opaliński<sup>2</sup>,  
Agnieszka Nawrocka<sup>1</sup>, Mirosława Kmiecik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Farmakologii i Toksykologii, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: szkoda@piwet.pulawy.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38C, 51-630 Wrocław

**Wstęp:** Z uwagi na to, że zwierzyna łowna przez większość swojego życia bytuje na określonym terenie, to może być uznana jako dobry indykator skażenia środowiska [1, 2].

**Cel badań:** Oznaczanie zawartości najbardziej toksycznych pierwiastków, tj. Pb, Cd, Hg w tkankach zwierzyny łownej pozyskanej w regionach przemysłowych uznawanych za tereny o znacznym skażeniu środowiska.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w mięśniach, wątrobie i nerkach pobranych od dzików, saren i jeleni pozyskanych w regionach przemysłowych o znacznym skażeniu środowiska, tj. Górnośląski Okręg Przemysłowy (okolice Miasteczka Śląskiego i Tarnowskich Gór), Legnicko-Głogowski Okręg Miedziowy, Bełchatowskie Zagłębie Węgla Brunatnego i Turosszowskie Zagłębie Węgla Brunatnego oraz region kontrolny Pojezierza Mazurskiego.

Próbki tkanek analizowano metodami z wykorzystaniem technik absorpcyjnej spektrometrii atomowej. Stosowane w tych badaniach procedury oznaczania pierwiastków toksycznych zostały zwalidowane, a także poddane procesowi akredytacji.

**Wyniki i omówienie:** Z dotychczas przeprowadzonych badań tkanek zwierząt łownych (mięśnie, wątroba, nerki) wynika, że, niektóre pierwiastki toksyczne, a szczególnie ołów i kadm występują w stężeniach wyższych, niż to się stwierdza w tkankach zwierząt gospodarskich, a zwłaszcza świń i bydła. Otrzymane wartości stężeń tych pierwiastków, głównie ołowiu i kadmu, w wielu przypadkach przekraczały najwyższe dopuszczalne poziomy, które wynoszą odpowiednio: ołów – mięso 0,10 mg/kg, wątroba, nerki 0,50 mg/kg; kadm – mięso 0,05 mg/kg, wątroba 0,50 mg/kg, nerki 1,0 mg/kg. Szczególnie wysokie stężenia ołowiu i kadmu stwierdzono w próbkach wątrób i nerek pobranych od zwierząt łownych pochodzących z regionu Górnośląskiego Okręgu Przemysłowego. Wartości średnie tych pierwiastków jak i mediany kształtowały się znacznie powyżej dopuszczalnych limitów. Średnie stężenie ołowiu w próbkach mięśni pobranych od zwierząt z regionu Pojezierza Mazurskiego (2,43 mg/kg) i Turosszowskiego Zagłębia Węgla Brunatnego (1,83 mg/kg) było wielokrotnie wyższe, niż to wykazano w mięśniach zwierząt pochodzących z pozostałych badanych regionów. Tak wysokie stężenia ołowiu w mięśniach badanych zwierząt, a szczególnie w regionie Pojezierza Mazurskiego wynikają ze skażeń wtórnych a nie z zanieczyszczenia środowiska, co potwierdziły niskie stężenia tego pierwiastka w wątrobie i nerkach tych zwierząt. Dla rtęci odnotowane stężenia w badanych tkankach kształtowały się na poziomie niskich setnych i tysięcznych części mg/kg i nie budziły większych zastrzeżeń higieniczno-toksykologicznych. W badaniach prowadzonych w ostatnich latach w związku z krajowym programem badań kontrolnych w tkankach świń i bydła stężenia ołowiu i kadmu były znacznie niższe, a przekroczenia najwyższych dopuszczalnych zawartości występowały tylko w pojedynczych próbkach [3]. Badania zwierzyny łownej będą kontynuowane w latach 2012–2013.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bilandžić N., Vratarić D., Perić T., Simić B., 2009. Lead and cadmium in red deer and wild boar from different hunting grounds in Croatia: *Sci. Total Environ.*, 407, 4243–4247.
- [2] Szkoda J., Żmudzki J., 2003. Pierwiastki toksyczne w tkankach zwierząt łownych: *Med. Wet.*, 57, 883–886.
- [3] Szkoda J., Żmudzki J., Nawrocka A., Kmiecik M., 2010. Ocena zawartości pierwiastków toksycznych w żywności pochodzenia zwierzęcego, *Pamiętnik Puławski, Zeszyt 151/I*, 355–362.

Badania wykonywane w związku z projektem rozwojowym NCBR Nr 12-0127-10.





## WPŁYW DŁUGOTRWALEJ DEPRYWACJI POLA GEOMAGNETYCZNEGO NA STAN PSYCHICZNY SZCZURÓW LABORATORYJNYCH

### EFFECT OF PROLONGED WEAKENING OF THE GEOMAGNETIC FIELD ON MENTAL STATE OF LABORATORY RATS

Barbara Tombarkiewicz, Krzysztof Pawlak,  
Marcin Lis, Jerzy Niedziółka

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Katedra Hodowli Drobiu, Zwierząt Futerkowych i Zoohigieny,  
Al. A. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, e-mail: rztombar@cyf-kr.edu.pl

**Wstęp:** Organizmy zwierząt od wieków podlegają ciągłej adaptacji do otaczających je warunków, w tym również do pola geomagnetycznego (PGM) i często w zauważalny sposób reagują na jego zmiany [5]. Zaburzenia magnetosfery Ziemi mogą być spowodowane czynnikami naturalnymi, bądź też wywołane działalnością człowieka, np. żelbetowe konstrukcje budynków mogą osłabiać naturalne ziemskie pole magnetyczne stokrotnie, a nawet więcej [4].

W świetle wyników badań wykazujących wpływ zaburzeń geomagnetosfery spowodowanych wzmożoną aktywnością Słońca na zdrowie i stan psychiczny ludzi [2] interesującym wydaje się, czy podobne wpływy wywierają sztuczne zaburzenia PGM.

**Materiał i metody:** Materiał doświadczalny stanowiły trzy grupy (A, B i C) samców szczurów laboratoryjnych szczepu Wistar. Grupy A i B składały się z 10 samców (każda), zakupionych w Zwierzętarń Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie, natomiast grupa C została utworzona z samców hodowanych od dwóch pokoleń w warunkach hypogeomagnetycznych. Szczury z grupy kontrolnej (A) przebywały w warunkach wolnych od zaburzeń PGM, natomiast klatki ze szczurami z grup doświadczalnych B i C umieszczono dodatkowo w metalowych klatkach ekranujących pole geomagnetyczne [3]. W celu zbadania wpływu sztucznych zaburzeń PGM na stan psychiczny zwierząt zastosowano model depresji wywołanej chronicznym, łagodnym stresem (model Wilnera), w którym miarą stanu depresyjnego jest spożycie słodkiej wody (test sacharozowy) [1].

Przed rozpoczęciem doświadczenia oraz po jego zakończeniu pobrano od wszystkich szczurów krew, w której oznaczono poziom kortykosteronu i ACTH, będących wskaźnikami stanu stresowego i świadczących o pobudzeniu osi podwzgórze-przysadka-nadnercza.

**Wyniki i omówienie:** Analiza uzyskanych wyników wykazała, że spożycie słodkiej wody przez szczury żyjące w warunkach niezaburzonego PGM spadło 5. dnia eksperymentu i na tym niższym poziomie utrzymywało się do 20. dnia testu, natomiast u obydwu grup utrzymywanych w warunkach hypogeomagnetycznych najniższe było między 3. a 8. dniem. Uzyskane wyniki testu sacharozowego mogłyby sugerować, że osłabienie pola geomagnetycznego zwiększa odporność na stres, ale wyniki analiz hormonalnych wykazują, że w grupie szczurów od dwóch pokoleń utrzymywanych w warunkach hypogeomagnetycznych (grupa C) poziom kortykosteronu był najwyższy i w odróżnieniu do pozostałych grup nie zmienił się pod wpływem dodatkowych bodźców stresujących. Może to sugerować, że długotrwałe osłabienie pola geomagnetycznego było dla tych zwierząt na tyle dużym stresem, że działanie innych, dodatkowych czynników stresotwórczych nie spowodowało tak silnej reakcji jak w pozostałych grupach.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Gronli J., Murison R., Bjorvatn B., Sorensen E., Portas C., Ursin R., 2004. Chronic mild stress affects sucrose intake and sleep in rats. *Behavioural Brain Research*, 150, 130–147.
- [2] Palmer S.J., Rycroft M.J., Cermack Ć.M., 2006. Solar and geomagnetic activity, extremely low frequency magnetic and electric fields and human health at the Earth's surface *Surv. Geophys.*, 27, 557–595.



- [3] Tombarkiewicz B., 2008. Effect of long-term geomagnetic field deprivation on the concentration of some elements in the hair of laboratory rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26, 75–79.
- [4] Tsunomura S., Tokumoto T., 2005. Man-made electromagnetic noises causing difficulty in geomagnetic and geoelectric observations in city area. *Biomed. Pharmacother.*, 59 Suppl. 1, S15.
- [5] Zhadin M., 2001. Review of Russian literature on biological action of DC and low-frequency AC magnetic fields. *Bioelectromagnetics*, 22, 27–45.



## PARAZYTOLOGICZNE ZANIECZYSZCZENIE ŚRODOWISKA GLEBOWEGO WOKÓŁ FERM BROJLERÓW KURZYCH

### PARASITOLOGICAL POLLUTION OF SOIL ROUND THE BROILER FARMS

Beata Trawińska, Bożena Nowakowicz-Dębek, Antoni Polonis

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, e-mail: beata.trawinska@up.lublin.pl

**Wstęp:** Środowisko hodowlane w okolicy dużych ferm zwierzęcych zanieczyszczone jest zwykle pasożytami i ich postaciami larwalnymi. Często źródło pasożytów występujących w glebie stanowi gnojowica stosowana do nawożenia upraw [3]. Jaja pasożytów znajdujące się powierzchniowych warstwach gleby mogą być rozsiwane na znaczne odległości. Dlatego są niebezpieczne dla zdrowia ludzi i zwierząt.

**Cel badań:** Ocena zanieczyszczenia gleby ferm kurcząt brojlerów przez pasożyty i ich formy larwalne.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w dwóch fermach brojlerów kurzych (A i B), w 2., 4. i 6. tygodniu odchowu ptaków. Stado brojlerów w fermie A liczyło 23 100 szt., zaś w fermie B – 24 500 szt. Glebę do badań parazytologicznych pobierano z 3 miejsc, obok kurników oraz 100 i 300 m od nich. W próbkach gleby oceniano obecność oocyst *Eimeria* spp. i nicieni jelitowych metodą Quinna w modyfikacji Gundłacha i Sadzikowskiego.

**Wyniki i omówienie:** W dwóch fermach w całym okresie badawczym wykrywano oocysty *Eimeria* spp. Podobnie Trawińska i wsp. [4] w środowisku glebowym w pobliżu ferm zarodowych stwierdzili obecność kokcydiów *Eimeria*. Fallacara i wsp. [1] prowadząc badania parazytologiczne u wolno żyjących ptaków, wykazali, że spośród badanych pasożytów również najczęściej było oocyst tych pierwotniaków. Natomiast jaja nicieni z rodzaju *Ascaris* występowały w obydwu fermach w glebie pobieranej obok kurnika w 4. tygodniu badań, zaś w fermie A jeszcze dodatkowo w odległości 100 m od budynku. Mogły one pochodzić nie tylko od drobiu, lecz również od bydła lub świń. Wykryto także jaja *Capillaria* spp. w glebie pochodzącej z fermy B – obok pomieszczenia inwentarskiego i 100 m od niego. W fermie A stwierdzono ponadto jaja nicieni *Toxocara* spp., które występowały w glebie w 2. i 4. tygodniu badań, co może świadczyć o zanieczyszczeniu jej odchodami psów. Znaczne rozpowszechnienie jaj *Toxocara* w środowisku zarówno wiejskim, jak i miejskim wynika prawdopodobnie z masowego zarobaczenia zwierząt mięsożernych, a zwłaszcza psów [2]. W obydwu fermach wykazano obecność jaj *Trichuris* spp., w glebie pochodzącej z fermy A w całym okresie badawczym, zaś w fermie B – w 4. i 6. tygodniu odchowu, 300 m od budynku. Źródłem ich mogły być świny, psy lub ludzie. Larwy i nicienie saprobiontyczne wykrywano w obydwu fermach, w 2. i 4. tygodniu badań w fermie A, zaś w 6. tygodniu w fermie B.

Otrzymane wyniki świadczą o parazytologicznym zanieczyszczeniu gleby w różnych odległościach od kurników, zwłaszcza przez oocysty *Eimeria*. Obecność jaj nicieni w glebie wynika nie tylko z zanieczyszczenia jej przez drób odchowywany w fermie, lecz również przez inne zwierzęta gospodarskie i dzikie oraz ptaki wolno żyjące.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Fallacara D.M., Monahan C.M., Morishita T.Y., Wack R.F., 2001. Fecal shedding and antimicrobial susceptibility of selected bacterial pathogens a survey of intestinal parasites in freeliving waterfowl. *Avian Dis.*, 45, 1.
- [2] Gundlach J.L., Sadzikowski A.B., Tomczuk K., 1996. Zanieczyszczenie jajami *Toxocara* spp. wybranych środowisk wiejskich i miejskich. *Med. Wet.*, 52, 6, 395–396.
- [3] Strauch D., 1993. Przeżywalność drobnoustrojów chorobotwórczych i pasożytów w wydalinach, nawozie i szlamie ściekowym. *Med. Wet. Cz. I*, 49, 2, 59–65.
- [4] Trawińska B., Polonis A., Tymczyna L., Popiołek-Pyrz M., Bombik T., Saba L., 2006. Bakteriologiczne i parazytologiczne zanieczyszczenie środowiska wokół wielkotowarowej fermy kur zarodowych. *Annales UMCS*, s. EE, 24, 50, 371–376.



## ODDZIAŁYWANIE SUPLEMENTACJI WITAMINY C NA DROBNOUSTROJE Z RODZINY ENTEROBACTERIACEAE W KALE ŚWIŃ

### REACTION OF VITAMIN C SUPPLEMENTATION ON ENTEROBACTERIACEAE FAMILY MICROBES IN SWINE FAECES

Beata Trawińska<sup>1</sup>, Jerzy Lechowski<sup>2</sup>, Antoni Polonis<sup>1</sup>, Andrzej Stasiak<sup>2</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <sup>1</sup>Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, <sup>2</sup>Katedra Hodowli i Technologii Produkcji Trzody Chlewnej, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, e-mail beata.trawinska@up.lublin.pl

**Wstęp:** Osiągnięcie optymalnych wyników produkcyjnych i zdrowotnych trzody chlewnej jest możliwe poprzez prawidłowe żywienie i utrzymanie odpowiednich warunków zoohigienicznych w chlewni. Prawidłowo funkcjonujący przewód pokarmowy zawierający odpowiednią florę bakteryjną jest jednym z czynników wpływających na produktywność świń [3]. Dlatego zwierzęta powinny otrzymywać środki stymulujące rozwój korzystnych drobnoustrojów przewodu pokarmowego (np. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*). Ważną rolę w tym procesie odgrywiają zakwaszacze, do których zalicza się kwas askorbinowy.

**Cel pracy:** Zbadanie, czy dodatek do paszy witaminy C wywiera wpływ na liczbę i rodzaj bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* zawartych w kale loch.

**Materiał i metody:** Analizy przeprowadzono w prywatnym gospodarstwie utrzymującym trzodę chlewną w chowie ściółowym w cyklu zamkniętym. Do badań użyto 15 sztuk świń, które podzielono na 3 grupy, kontrolną (K) i doświadczalne (A i B). Grupa kontrolna nie otrzymywała witaminy C, zaś grupy doświadczalne były żywione z dodatkiem do paszy witaminy C w dawce 2,5 g /100 kg m.c./ szt./dzień podawanej do niewielkiej ilości paszy. Świnie utrzymywano w oddzielnych kojcach. Kał do badań pobierano z prostnicy, od świń z grupy A po 3 tygodniach podawania witaminy C, zaś z grupy B po 6 tygodniach. Ilościowej i jakościowej ocenie poddano bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* zawarte w odchodach. Wyniki badań analizowano statystycznie testem Manna-Whitneya (Wilcoxon), przy poziomie istotności  $p \leq 0,05$ .

**Wyniki i omówienie:** Po zastosowaniu 3 i 6-tygodniowej suplementacji kwasem askorbinowym w odchodach świń zaobserwowano istotne obniżenie się liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w stosunku do grupy K. Witamina C w tym przypadku działała jako zakwaszacz obniżając pH przewodu pokarmowego (Bendich 1999). Niskie pH wpływa korzystnie na utrzymanie prawidłowej mikroflory przewodu pokarmowego i ogranicza rozwój bakterii chorobotwórczych [2]. W kale świń grupach K, A i B występowały bakterie *E. coli*, *Providencia* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp. i *Enterobacter* spp. Natomiast drobnoustroje *Lactobacillus* spp. wykazano jedynie w odchodach z grup doświadczalnych. Obecność bakterii kwasu mlekowego u zwierząt otrzymujących witaminę C świadczy o dobroczynnym działaniu jej na florę przewodu pokarmowego. Dodatek tej witaminy wpłynął również na spadek liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* i wzrost tzw. dobroczynnej flory przewodu pokarmowego (*Lactobacillus* spp.), oddziałując równocześnie korzystnie na produktywność i zdrowotność loch.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bendich A., 1999. Immunological role of antioxidant vitamins, [in:] Basu T.K., Temple N.J., Garg M.L., eds. Antioxidant in Human Health and Disease. Walingford, Oxon UK: CAB International, 27, 41.
- [2] Lipiński K., 2008. Żywienie jako czynnik ograniczający zakażenie żywności bakteriami *Salmonella*, Trzoda Chlewna, 8–9, 89–90.
- [3] Molhave L., Clausen G., Berglund G., De Ceaurriz J., Kettrup A., Lindvall T., Maroni M., Pickering A., Risse U., Rothweiler H., Seferd B., Younes M., 1997. Total volatile organic compounds in indoor air quality investigations, Indoor Air, 7, 225–241.



## OCENA ZANIECZYSZCZEŃ GAZOWYCH POWIETRZA NA FERMIE INDYKÓW METODĄ SPEKTROSKOPII W PODCZERWIENI Z TRANSFORMATĄ FOURIERA (FTIR)

### ASSESSMENT OF AERIAL POLLUTANT GASES BY FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY ON TURKEY FARM

Dorota Witkowska, Janina Sowińska, Krystyna Iwańczuk-Czernik,  
Anna Wójcik, Tomasz Mituniewicz

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, e-mail: dorota.witkowska@uwm.edu.pl

**Wstęp:** Prawodawstwo UE wymaga, by w intensywnej produkcji drobiarskiej wdrażać najlepsze dostępne techniki (BAT), między innymi poprzez monitorowanie i redukcję emisji substancji gazowych. Poza najczęstszymi i dawno zidentyfikowanymi w budynkach dla drobiu gazami, takimi jak CO<sub>2</sub> i NH<sub>3</sub>, na efekt odorotwórczy, a czasem również toksyczny mogą wpływać także inne domieszki organiczne i nieorganiczne, nawet te które występują w niewielkich stężeniach. Ze względu na brak prostych i łatwo dostępnych metod oznaczania gazów w powietrzu wykonanie precyzyjnych pomiarów *in situ* w budynkach fermowych jest utrudnione, a w dostępnej literaturze naukowej znajduje się niewiele informacji z zakresu koncentracji gazów odorotwórczych i ich emisji z ferm indyków.

**Cel badań:** Określenie stężenia gazów w budynkach produkcyjnych fermy indyków metodą spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera przy użyciu przenośnego analizatora, który stosunkowo łatwo może być wykorzystany do pomiarów w warunkach terenowych.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w pięciu budynkach fermy brojlerów indyckich (obsada od 1500 do 5000 sztuk). Pomiary stężenia gazów były wykonywane za pomocą urządzenia Gasmeter DX-4030 (metodą FTIR) przez cały 19-tygodniowy okres produkcyjny, co 3 tygodnie, w 5 punktach każdego budynku. Uzyskane widma pomiarowe poddano analizie ilościowej i jakościowej przy użyciu programu Calcmet Pro, wyposażonego w bibliotekę widm referencyjnych dla 200 gazów nieorganicznych i organicznych.

**Wyniki i omówienie:** Wśród gazów nieorganicznych najczęściej i w najwyższych stężeniach stwierdzono dwutlenek węgla (220–2058 ppm) oraz amoniak (4–31 ppm). Podobne wyniki uzyskali Guiziou i Béline [3] oraz Wathes i wsp. [4] w kurnikach dla brojlerów kurzych, przy czym tak jak w badaniach własnych najwyższą koncentrację tych gazów wspomniani autorzy stwierdzili w pierwszej połowie odchowu ptaków, co prawdopodobnie wynikało ze słabszej wentylacji pomieszczeń. W badaniach własnych w mniejszych stężeniach (2–6 ppm) zidentyfikowano: tlenek azotu, tlenek węgla, fosforowodor oraz difluorek tlenu, a z grupy związków organicznych związki siarki i azotu, takie jak: merkaptan metylowy i etylowy, akrylo- i metakrylonitryl, anilina, pirydyna i diglikolamina oraz węglowodory: metan, 1,3-butadien, dichlorometan, 1,1-dichloroetan, chlorek winylu, bromometan i chlorometan. Podobnie jak w badaniach innych autorów [2] wykazano także obecność niektórych związków z grupy alkoholi, kwasów organicznych, estrów, aldehydów, ketonów, monoterpenu i fenoli, jednak były to ilości śladowe – poniżej 1–2 ppm.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Hayes E.T., Curran T.P., Dodd V.A., 2006. Odour and ammonia emissions from intensive poultry units in Ireland, *Bioresource Technology*, 97, 933–939.
- [2] Guiziou F., Béline F., 2005. In situ measurement of ammonia and greenhouse gas emissions from broiler houses in France, *Bioresource Technology*, 96, 203–207.
- [3] Wathes C.M., Holden M.R., Sneath R.W., White R.P., Phillips V.R., 2012. Concentrations and emission rates of aerial ammonia, nitrous oxide, methane, carbon dioxide, dust and endotoxin in UK broiler and layer houses, *British Poultry Science*, 38, 1, 14–28.
- [4] Herbut E., Walczak J., Krawczyk W., Szewczyk A., Pająk T., 2010. Odour emissions from poultry production: Monograph: Pollution and organic aspects of animal production, 58–70.





## MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA ZIOŁ W CELU POPRAWY DOBROSTANU STRUSI W CZASIE POSTĘPOWANIA PRZEDUBOJOWEGO

### THE EFFECT OF MEDICINAL HERBS ON THE WELFARE OF OSTRICHS DURING PRE-SLAUGHTER HANDLING

Anna Wójcik<sup>1</sup>, Ewa Rumińska<sup>2</sup>, Dorota Witkowska<sup>1</sup>, Janina Sowińska<sup>1</sup>, Tomasz Mituniewicz<sup>1</sup>, Janusz F. Pomianowski<sup>3</sup>, Agnieszka Kwiatkowska-Stenzel<sup>1</sup>, Joanna Piotrowska<sup>1</sup>, Łukasz Chorąży<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, ul. M. Oczapowskiego 5, 10-718 Olsztyn, e-mail: awojcik@uwm.edu.pl <sup>2</sup>Gabinet Weterynaryjny „Czajka”, Bukwałd 45a, 11-001 Dywity <sup>3</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Nauki o Żywności, Katedra Towaroznawstwa i Badań Żywności, Plac Cieszyński 1, 10-719 Olsztyn

**Wstęp:** Jednym z okresów, kiedy dochodzi do ograniczenia poziomu dobrostanu u zwierząt gospodarskich, jest obrót przedubojowy. Strusie, jako ptaki nie w pełni udomowione, są szczególnie podatne na skumulowany wpływ czynników stresujących występujących w obrocie przedubojowym: brak żywności i wody, zniszczenie hierarchii stadnej, ograniczenie powierzchni bytowej, narażenie zwierząt na ból, zmiana warunków mikroklimatycznych, nagle przyspieszenie, wibracje, hałas oraz czynności związane z ubojem. Efektem nagromadzenia się w krótkim czasie tak dużej liczby stresorów, są zmiany fizjologiczne i morfologiczne objawiające się między innymi zmianami w składzie krwi, stratami masy ciała i uszkodzeniami tuszek oraz powstawaniem wad mięsa [1].

**Cel pracy:** Określenie możliwości zastosowania mieszanki ziół w celu wzmocnienia odporności strusi rzeźnych na skutki działania niekorzystnych bodźców stresowych występujących w obrocie przedubojowym, określanym na podstawie wybranych wskaźników krwi.

**Materiał i metody:** Materiał doświadczalny stanowiło 110 strusi rzeźnych w wieku 10–12 miesięcy, które na 7 dni przed planowanym obrotem przedubojowym otrzymywały mieszankę ziołową w paszy (F+P) lub w wodzie (F+W), w ilości 1,5% prognozowanego spożycia paszy w ostatnim tygodniu odchowu. Mieszanka składała się z ziół krajowych: rutwicy lekarskiej (*Herb. Galegae*), pokrzywy zwyczajnej (*Herb. Utricae*), melisy lekarskiej (*Fol. Melissa*) i szalwii lekarskiej (*Fol. Salviae*). Strusie przeznaczone do uboju podzielono na 4 grupy: bez transportu (B-T) oraz grupy transportowane z różnych odległości: 100 km (T-100), 200 (T-200) i 300 km (T-300). Krew od strusi pobierano z żyły szyjnej w momencie wykrwawiania się ptaków. W celu stwierdzenia stopnia stresowrażliwości ptaków obliczono liczbowy stosunek heterofilii do limfocytów (H:L), oznaczono zawartość białka całkowitego, trójglicerydów, glukozy, kwasu moczowego i poziom kortykosteronu.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki przedstawiają się następująco:

	B-T	T-100	T-200	T-300	K	F+P	F+W
H:L	1,82	1,70	1,62	1,88	1,65	1,84	1,77
Białko całkowite (g/l)	44,56 <sup>A</sup>	48,21 <sup>B</sup>	48,63 <sup>Ba</sup>	51,82 <sup>ABb</sup>	47,89	47,89	49,14
Trójglicerydy (mmol/l)	3,02 <sup>Aa</sup>	1,17 <sup>B</sup>	2,53 <sup>Ab</sup>	1,61 <sup>B</sup>	2,25	1,89	2,05
Glukoza (mmol/l)	16,04 <sup>a</sup>	14,46 <sup>Ac</sup>	17,97 <sup>Bb</sup>	16,61 <sup>d</sup>	16,60	16,92	15,24
Kwas moczowy (mmol/l)	0,36	0,38	0,34	0,38	0,36	0,37	0,37
Kortykosteron (ng/ml)	25,34	22,60	27,70	23,53	24,10	24,42	25,60

A, B ÷ P ≤ 0,01; a, b oraz c, d ÷ P ≤ 0,05

Analiza wybranych wskaźników krwi strusi wykazała, że obrót przedubojowy i transport na różne odległości był stresem wywołującym zmiany wskaźników krwi, natomiast podanie ziół nie wskazuje na złagodzenie reakcji stresowej u strusi.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Minka N.S., Ayo J.O., 2008. Assessment of the stresses imposed on adult ostriches (*Struthio camelus*) during handling, loading, transportation and unloading, *The Veterinary Record*, 162, 846–851.

Badania wykonano w związku z projektem badawczym nr NR12 0032 06/2009 (2009–2012) finansowanym przez NCBiR.



## ANALIZA WARUNKÓW UTRZYMANIA BOCIANÓW W OŚRODKU REHABILITACJI PTAKÓW DZIKICH W BUKWAŁDZIE

### THE ANALYSIS OF KEEPING CONDITIONS OF STORKS IN THE REHABILITATION CENTER FOR WILD BIRDS IN BUKWAŁD

Anna Wójcik<sup>1</sup>, Joanna Zawadzka<sup>2</sup>, Ewa Rumińska<sup>2</sup>, Ireneusz Baran<sup>3</sup>, Edyta Mituniewicz<sup>1</sup>,  
Janina Sowińska<sup>1</sup>, Tomasz Mituniewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska, ul. M. Oczapowskiego 5, 10-718 Olsztyn, e-mail: awojcik@uwm.edu.pl

<sup>2</sup>Ośrodek Rehabilitacji Ptaków Dzikich w Bukwałdzie, Bukwałd 45a, 11-001 Dywity

<sup>3</sup>Powiatowy Inspektorat Weterynarii w Szczytnie, ul. J. Korczaka 1, 12-100 Szczytno

**Wstęp:** Z roku na rok wzrasta ilość ptaków dzikich, w tym bocianów, które z różnych przyczyn trafiają do ośrodków rehabilitacji. Nie wszystkie z nich po leczeniu i rehabilitacji są w stanie odlecieć z Polski na zimę. Istnieje wówczas konieczność przetrzymania ich w ośrodkach rehabilitacji. Brak standardów utrzymania bocianów w takich ośrodkach spowodował podjęcie badań z tego zakresu.

**Cel pracy:** Analiza warunków utrzymania w okresie zimy bocianów w Ośrodku Rehabilitacji Ptaków Dzikich w Bukwałdzie w województwie warmińsko-mazurskim.

**Materiał i metody:** Badania prowadzono od 18 II do 11 III 2012 r. w drewnianej ptaszarni, podzielonej na 14 woli, każda o powierzchni 5,8 m<sup>2</sup> (2x2,8 m). Bociany utrzymywano w 6 woliach po 5 szt. w każdej. Budynek miał wentylację naturalną, w dachu zamontowano świetliki. Ptaki utrzymywano na trocinach, które rozsypany raz w tygodniu w ilości 10 kg/wolierę. Bociany żywno wybrakowanymi i uśmierconymi w zakładzie wylęgowym jednodniówkami indyczymi w ilości 0,5 kg/szt./dobę. Każda woliara wyposażona była w metalową tacę na karmę oraz metalowe wiadro z wodą. Kontrola warunków środowiskowych odbywała się zgodnie z metodyką badań zoohigienicznych. Rejestrowano: temperaturę i wilgotność względną powietrza, określano poziom CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, oznaczano ogólną liczbę bakterii i grzybów: w powietrzu oraz w ściółce z trocin. Określano również wilgotność i pH ściółki.

**Wyniki i omówienie:** Ptaszarnię wybudowano w 2011 r. i zasiedlono ptakami jesienią. Bociany pochodziły z wiosennych lęgów w 2011 r., które z różnych przyczyn trafiły na leczenie i rehabilitację do ośrodka. W chwili prowadzenia badań ptaki były zdrowe. Analizy wykazały, że średnie parametry termiczno-wilgotnościowe w budynku kształtowały się na poziomie 0,5±0,9°C przy wilgotności względnej 87,8÷93,3% (min. i max. odpowiednio: -8,0 i +7,5°C oraz 47,8 i 99%). Na zewnątrz parametry te były następujące: temperatura 0,1°C (-10,6 i +7,9°C); wilgotność względna 86,4% (44,9 i 99%). U bocianów przy spadkach temperatury w budynku poniżej zera nie obserwowano odmrożeń, ale ptaki były bardziej osowiałe i mniej aktywne niż w dni, kiedy temperatura była dodatnia. Stężenie NH<sub>3</sub> w ptaszarni nie przekraczało 5 mg/m<sup>3</sup>, a CO<sub>2</sub> 0,07%. Ogólna liczba bakterii w woliach z bocianami wynosiła 1,99x10<sup>4</sup> EFU/m<sup>2</sup>, natomiast grzybów 2,77x10<sup>3</sup> EFU/m<sup>2</sup>, na zewnątrz odpowiednio: 1,39x10<sup>3</sup> i 1,95x10<sup>3</sup> EFU/m<sup>2</sup>. Trociny przed zastosowaniem jako materiał ściółkowy, charakteryzowały się następującymi parametrami: wilgotność 23,5%, pH 5,73 oraz ogólna liczba bakterii i grzybów, odpowiednio: 8,57x10<sup>3</sup> i 2x10<sup>3</sup> EFU/m<sup>2</sup>. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne ściółki wynosiło: 13,22x10<sup>7</sup> (bakterie) i 4,45x10<sup>3</sup> (grzyby). Średnia wilgotność zużytej ściółki pobranej z woli bocianów wahała się w granicach 48,±61,0%. Najbardziej mokre trociny (nawet do 80%) były wokół wiader z wodą. Należy zaznaczyć, że bociany nie we wszystkich woliach w jednakowym stopniu rozlewały wodę. Odczyn trocin z lekko kwaśnego (5,73), pod wpływem odchodów bocianów, zmienił się na odczyn lekko zasadowy (7,77±7,97). Obserwując zachowania bocianów, odnotowano przypadki agresji ptaków wobec siebie, spowodowane być może ograniczoną przestrzenią, jaką miały do swojej dyspozycji.

Biorąc pod uwagę, że w trakcie utrzymania bocianów w ptaszarni w okresie zimy nie odnotowano upadków ani zachorowań tych ptaków, można sądzić, że warunki utrzymania jakie zapewniono bocianom, były właściwe.



**SEKCJA  
ADMINISTRACJI  
WETERYNARYJNEJ**





## ANALIZA TECHNIK SZKOLENIOWYCH W PROWADZENIU ĆWICZEŃ SYMULACYJNYCH Z ZAKRESU ZWALCZANIA CHOROÓB ZAKAŻNYCH ZWIERZĄT

### THE ANALYSIS OF TRAINING TECHNIQUES USED IN THE PROCESS OF CONDUCTING SIMULATION EXERCISES FOR ERADICATION OF ANIMAL INFECTIOUS DISEASE

Zofia Batorczak, Andrzej Bielarczyk

Wojewódzki Inspektorat Weterynarii we Wrocławiu, ul. Januszowicka 48, 50-983 Wrocław,  
e-mail sekretariat@wroc.wiw.gov.pl

Obowiązek przeprowadzania ćwiczeń symulacyjnych z zakresu zwalczania chorób zakaźnych zwierząt wynika wprost z zapisów obowiązującego prawa. W trakcie organizowania i prowadzenia ćwiczeń istotnym jest umożliwienie uczestnikom zapoznania się ze specyfiką zwalczania danej choroby, opisanej w akcie prawnym normującym to zagadnienie, a także w Podręczniku Diagnostycznym oraz w Polskim Planie Gotowości Zwalczania dla danej jednostki chorobowej. Organizowane ćwiczenia mogą mieć charakter wycinkowy, obejmując doskonalenie technik administracyjnych i zarządzania w zwalczaniu choroby lub ćwiczenie praktyczne zasad postępowania w ognisku choroby, jak również mogą obejmować praktyczne ćwiczenie wszystkich elementów związanych z prowadzeniem zwalczania, w tym współdziałanie z inspekcjami, służbami i strażami.

**Materiał i metody:** Analizie poddane zostały zastosowane techniki szkoleniowe, przyjęte w organizacji ćwiczeń symulacyjnych przeprowadzonych na terenie województwa dolnośląskiego w latach 2006–2012. W celu porównawczym dołączono do opracowania również analizę postępowania w ogniskach FMD na terenie Turcji oraz sposób przeprowadzenia pierwszych ćwiczeń symulacyjnych z zakresu zwalczania FMD na terenie tego kraju. Analiza ukierunkowana została na technikę szkoleniową, osiągnięty efekt szkoleniowy, grupę docelową dla której ćwiczenie zostało zorganizowane, zaangażowanie uczestników oraz efektywność poniesionych nakładów finansowych w stosunku do osiągniętego efektu szkoleniowego.

**Wyniki i omówienie:** W wyniku przeprowadzonej analizy można sformułować następujące wnioski dotyczące zastosowanych technik szkoleniowych.

W trakcie pierwszych organizowanych ćwiczeń zastosowano technikę wykładową połączoną z instruktażem. Cel osiągnięto poprzez wizualizację działań koniecznych do prawidłowego przeprowadzenia działań w ognisku choroby, przy braku zaangażowania w prowadzone działania osób uczestniczących w ćwiczeniach. Osiągnięty efekt szkoleniowy nie był wysoki w stosunku do poniesionych nakładów.

Kolejne organizowane ćwiczenia bazowały na technice treningowej. Ćwiczone elementy obejmowały podejmowanie decyzji w zakresie przyjmowania strategii zwalczania choroby, prowadzenia zwalczania metodami administracyjnymi oraz elementy działań praktycznych w wybranych obszarach. Ta technika szkoleniowa angażowała wszystkich uczestniczących w ćwiczeniach. Efekt szkoleniowy osiągany w wyniku ćwiczeń w stosunku do ponoszonych nakładów był wysoki.

Najwyżej ocenić należy ćwiczenia, które swoim zakresem obejmowały symulację zwalczania chorób zakaźnych zwierząt, przeprowadzonych w realnym czasie, obejmujących podjęcie wszystkich koniecznych działań związanych ze zwalczaniem choroby. Pomimo najwyższych nakładów organizacyjnych i finansowych osiągnięty rezultat szkoleniowy w najwyższym stopniu przygotował kadry weterynaryjne do podjęcia działań związanych z eradykacją choroby. W każdej przyjętej technice szkoleniowej wykorzystano również element dyskusji, podsumowujący przeprowadzone ćwiczenie, omawiający pozytywne i negatywne działania uczestników.



## WSPÓŁPRACA POMIĘDZY WOJ. ZACHODNIOPOMORSKIM A LANDAMI NIEMIECKIMI W ZAKRESIE ZWALCZANIA CHORÓB ZAKAŹNYCH ZWIERZĄT

### COOPERATION BETWEEN THE ZACHODNIOPOMORSKIE VOIVODESHIP AND THE FEDERAL STATES OF GERMANY FOR ERADICATION OF ANIMAL INFECTIOUS DISEASES

**Tomasz Grupiński**

*Inspekcja Weterynaryjna, Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Szczecinie, ul. Ostrawicka 2; 71-337 Szczecin*

Położenie województwa zachodniopomorskiego, a przed reformą administracyjną kraju województwa szczecińskiego, wymagało od dawna nawiązania i utrzymania właściwych kontaktów międzynarodowych, szczególnie z Niemcami. Województwo to charakteryzowało się dużą przewagą rolnictwa uspołecznionego – w rękach państwa lub spółdzielni produkcyjnych zgromadzone było ponad 75% obszarów rolnych oraz blisko 90% produkcji zwierzęcej. Bardzo duże skupiska hodowli, wielkie fermy produkcyjne bydła, trzody chlewnej stwarzały wiele problemów epizootycznych. Podobna sytuacja w tamtych latach była na terenie byłego NRD. Stwarzało to spore pole do wymiany doświadczeń i prób rozwiązywania niemal identycznych problemów. Dodatkowym elementem było bardzo duże zagrożenie generowane co kilka lat przez Instytut Weterynaryjny im. Loefflera na wyspie Riems, bliźniaczy do Instytutu Pruszczycy w Zduńskiej Woli. To z niego kilka razy dochodziło do wymknięcia się wirusa pryszczycy, który atakował gospodarstwa Meklemburgii, a nawet prawdopodobnie stał się przyczyną powstania kilku ognisk pryszczycy w byłym woj. szczecińskim. Sytuacje te były objęte tajemnicą państwową zarówno po wschodniej, jak i zachodniej stronie Odry i stanowiły ogromną przeszkodę w działalności prewencyjnej i profilaktycznej. Tylko dzięki koleżeńskim znajomościom z niektórymi ówczesnymi powiatowymi lekarzami weterynarii w Pasewalku i w Greifswaldzie udawało się otrzymać mniej lub bardziej zawołowane informacje o problemach z pryszczycą czy też klasycznym pomorem świń na terenach przyległych do granic polskich. Sytuacja radykalnie zaczęła się zmieniać po 1990 r., kiedy to w miarę upływu czasu kontakty z nieformalnych zaczęły przekształcać się w coraz bardziej sformalizowane, choć nadal dość sporadyczne.

Dopiero rok 1998 stał się przełomowym dla wspólnych przedsięwzięć. Działania w celu nawiązania formalnej współpracy rozpoczęły się rozdzielnie: osobno dla Meklemburgii Pomorza Przedniego i osobno dla Brandenburgii. Blisko dwa lata trwały prace nad tekstem porozumienia o charakterze międzynarodowym. O ile prace we współpracy pomiędzy Brandenburgią, woj. zachodniopomorskim i woj. lubuskim szybko znalazły swój finał, zakończony podpisaniem dokumentu w 2000 r., to próby takie z Landem Meklemburgii uległy w pewnym momencie zahamowaniu i nie zostały oficjalnie podjęte do dziś mimo istnienia wielu obszarów intensywnej współpracy.

Porozumienie to o charakterze oświadczenia o współpracy pomiędzy Brandenburgią, woj. zachodniopomorskim i woj. lubuskim zostało podpisane w Poczdamie w dniu 10 maja 2000 r., a sygnatariuszami tego dokumentu byli; Klaus Reimer, Krajowy Lekarz Weterynarii Brandenburgii, Zachodniopomorski Wojewódzki Lekarz Weterynarii Tomasz Grupiński oraz Lubuski Wojewódzki Lekarz Weterynarii Przemysław Brodzikowski. Oświadczenie uwzględniało tradycyjne zasady dobrej współpracy i przyjazne stosunki między województwami lubuskim i zachodniopomorskim oraz landem Brandenburgia, a także leżące u podstaw wzajemne zaufanie i konieczność wymiany poglądów między służbami weterynaryjnymi województw lubuskiego, zachodniopomorskiego i Kraju Związkowego Brandenburgia oraz:

- wysokie uznanie osiągniętych wyników, efektywności i znaczenia dotychczasowej współpracy w dziedzinie doskonalenia nadzoru nad środkami spożywczymi, środkami żywienia zwierząt i nadzoru nad chorobami zakaźnymi zwierząt na obszarach partnerów objętych umową;
- wspólne oświadczenie marszałków województw lubuskiego i zachodniopomorskiego oraz Ministra do spraw Rolnictwa, Ochrony Środowiska i Planowania Przestrzennego landu Brandenburgia z dnia 14.05.1999 r.;



- konieczność dalszego wykorzystywania wszelkich możliwości współpracy wykraczającej poza granice województw oraz landów, a w szczególności wykorzystywania osiągnięć naukowych i praktycznych doświadczeń, konieczność dalszego doskonalenia i podniesienia jakości państwowego nadzoru nad środkami spożywczymi, środkami żywienia zwierząt oraz nadzoru nad chorobami zakaźnymi zwierząt, racjonalnego planowania, a także efektywnego wykorzystania procesów i struktur;
- konieczność zapobiegania i zwalczania chorób zakaźnych zwierząt w regionie przygranicznym wzdłuż wspólnej granicy państwowej.

Ustalono współpracę między służbami weterynaryjnymi województw lubuskiego i zachodniopomorskiego oraz landu Brandenburgia, opartą na zasadach przyjaźni i równouprawnienia. Istotą tej współpracy stały się regularne konsultacje kierowników służb weterynaryjnych i służb nadzoru nad środkami żywienia województw lubuskiego i Zachodniopomorskiego oraz landu Brandenburgia. Objęły one takie zagadnienia, jak:

- stan i rozwój struktur urzędowych, zasobów personalnych i materialnych,
- efektywne wykonywanie zadań zgodnie z wytycznymi Unii Europejskiej,
- metody zarządzania,
- elektroniczne systemy informacji i dokumentacji,
- zarządzanie kryzysowe,
- przepisy krajowe,
- efektywna diagnostyka laboratoryjna na najnowszym poziomie naukowym.

Konsultacje te odbywają się raz do roku po stronie niemieckiej i raz po stronie polskiej. Dodatkowo wprowadzono hospitacje, obejmujące rocznie 2–4 specjalistów weterynarii w instytucjach, urzędach, jednostkach badawczych lub innych oddziałach weterynaryjnych wszystkich umawiających się stron na przemian w Brandenburgii, w województwie lubuskim lub zachodniopomorskim. Celem tych hospitacji są wzajemna wymiana informacji o najnowszym stanie wiedzy, wdrażanie nowych metod i procedur, wprowadzanie w życie wspólnych projektów i programów, ćwiczenia strategii zarządzania kryzysowego, wzięcie udziału w szkoleniach, imprezach dokształcających lub konferencjach naukowych, doskonalenie nadzoru nad ochroną zwierząt i dystrybucją środków leczenia zwierząt oraz nadzoru nad środkami spożywczymi i środkami żywienia zwierząt. Bardzo istotną sprawą jest możliwość wypracowania i dostosowania dokumentów normatywnych i przepisów prawnych do przepisów Unii Europejskiej. W celu wykonania zadań obszerniejszych i dłużej trwających umowa przewiduje możliwość utworzenia grup roboczych, które pomiędzy wyżej opisanymi spotkaniami roboczymi będą mogły wymieniać informacje na temat poszczególnych działań i ich wyników drogą elektroniczną. Umowa w tym kształcie utrzymała się do 2005 r., kiedy to strona Polska będąca już pełnoprawnym członkiem Wspólnoty Europejskiej oraz strona niemiecka musiały ją znowelizować, co nie zmieniło głównych zasad współdziałania, a jedynie uściśliło warunki finansowe tej współpracy. Już w 2004 r. postanowiono zorganizować spotkanie dotyczące opracowania zasad współdziałania w przypadku wystąpienia zdarzeń kryzysowych w postaci wybuchu ognisk chorób zakaźnych zwierząt. W spotkaniu tym brali udział wszyscy powiatowi lekarze weterynarii Brandenburgii oraz przedstawiciele woj. zachodniopomorskiego. Wypracowano wtedy metody związane z powiadamianiem się o zdarzeniach tego typu, zasady wymiany informacji oraz wspólnego działania celem likwidacji zagrożenia. Wypracowane zasady zostały przedstawione w następnym, 2005 r. na oficjalnym spotkaniu w Criewen. Po niewielu poprawkach, w tym ustaleniu języka komunikacji oraz wskazaniu do tego właściwych środków, zasady te zostały zaakceptowane przez umawiające się strony. Te wypracowane metody okazały się niezwykle skuteczne, kiedy to wiosną 2006 r. doszło do stwierdzenia przypadku wysokozjadliwej grypy ptaków w Vierraden, koło Schwedt, a więc tuż przy granicy z woj. zachodniopomorskim. W ciągu 24 godzin opanowano całą sytuację, łącznie z ustaleniem styku wspólnych okręgów na granicy, zabezpieczeniem przejść granicznych w Krajniku i Osinowie, spotkaniem Premiera Rządu Polskiego z Premierem Brandenburgii, wojewodów oraz zespołów reagowania kryzysowego. Ocena tych działań była na najwyższym poziomie. Pozwoliło to w dalszej kolejności na wyjątkowo spokojne i merytoryczne współdziałanie w momencie pojawienia się kolejnego ogniska tej choroby, tym razem po stronie polskiej w woj. lubuskim w Rezerwacie Słońsk.

Szczególnym jednak wyzwaniem była dla woj. zachodniopomorskiego sytuacja, która wytworzyła się w zakresie grypy ptasiej w północnych powiatach Meklemburgii, a szczególnie na wyspie Rugii. Brak sformalizowania współpracy powodował opóźnienia w przekazywaniu przez stronę tego landu informacji o rzeczywistym zagrożeniu. Dopiero interwencje, w tym ze szczebla centralnego, doprowadziły do spotkania



w Zachodniopomorskim Urzędzie Wojewódzkim z Lądowym Lekarzem Weterynarii oraz przekazania informacji o aktualnym zagrożeniu woj. zachodniopomorskiego tą jednostką chorobową. Ustalono, że głównym punktem, przez który przechodzić będą wszelkie dane, jest centrum kryzysowe Straży Pożarnej jako najlepiej w tym momencie wdrożonej do wymiany informacji. Weryfikacja ustaleń nastąpiła szybko, gdyż ognisko ptasiej grypy w Świnoujściu pozwoliło na zweryfikowanie poprawności przyjętych na spotkaniu w Szczecinie zasad współpracy z Meklemburgią.

Od czasu tych zdarzeń zacieśniła się współpraca w zakresie zwalczania chorób zakaźnych zwierząt, szczególnie z Brandenburgią. Corocznie przeprowadzane są ćwiczenia związane z wystąpieniem zdarzeń kryzysowych, opracowano wspólny protokół zgłoszenia, systemy powiadamiania alarmowego pomiędzy Inspekcjami Weterynaryjnymi, w tym wyodrębnione adresy mailowe, numery telefonów, osoby pierwszego kontaktu itp. Każdorazowo na spotkaniu jesiennym omawiane są efekty takich ćwiczeń i wprowadzane korekty w tym obszarze. Ponadto przyjęto zasadę, iż każde z dwóch spotkań każdego roku odbywa się w innym powiecie strony polskiej lub niemieckiej, wraz z wymianą powiatowych lekarzy weterynarii w poszczególnych spotkaniach. Pozwala to nie tylko na nawiązywanie osobistych kontaktów pomiędzy nimi, ale przede wszystkim pozwala zapoznać się ze strukturą organizacyjną oraz zasadami reagowania w sytuacjach zagrożenia wybuchem chorób zakaźnych lub zdarzeń już o charakterze kryzysowym.



## **ROLA LABORATORIUM PIW – PIB W BADANIACH MONITORINGOWYCH NA PRZYKŁADZIE UWALNIANIA STAD BYDŁA OD ZAKAŻEŃ WIRUSAMI ZAKAŻNEGO ZAPALENIA NOSA I TCHAWICY/OTRĘTU (BHV1) ORAZ BIEGUNKI BYDŁA I CHOROBY BŁON ŚLIZOWYCH (BVD-MD)**

### **THE ROLE OF PIW – PIB IN MONITORING OF INFECTIOUS DISEASES FOR EXAMPLE ERADICATION OF BOVINE HERPESVIRUS 1 (BHV1) AND BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV) IN CATTLE HERDS**

**Krzysztof Niemczuk, Jerzy Rola, Mirosław P. Polak**

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, 24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57*

#### **Zakaźne zapalenie nosa i tchawicy bydła (IBR/IPV)**

Aby ograniczyć straty ekonomiczne spowodowane przez BHV1, kraje członkowskie Unii Europejskiej opracowały i wdrożyły przepisy prawne, które określają wymagania zdrowotne dla zwierząt w obrocie wewnętrznym i przy przywozie z krajów trzecich. Jeśli chodzi o obrót nasieniem bydła domowego, to przepisy te zawarte są w dyrektywach rady nr 88/407/EEC z 14 lipca 1988 r. i 2003/43/EC z 26 maja 2003 r. Postanowienia tych dyrektyw zostały wdrożone w Polsce w postaci Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 20 maja 2009 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia bydła. Rozporządzenie to określa szczegółowe wymagania weterynaryjne do prowadzenia działalności w zakresie wytwarzania, pozyskiwania, konserwacji, obróbki, przechowywania, prowadzenia obrotu lub wykorzystywania nasienia bydła przy przywozie nasienia i handlu nasieniem bydła oraz szczegółowe wymagania dla świadectw zdrowia nasienia bydła w handlu i sposób ich wystawiania.

W załączniku nr 2 tego rozporządzenia wymieniono wymagania weterynaryjne dla nasienia, które może być przedmiotem handlu. W przypadku zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła nasienie takie powinno pochodzić od zwierząt, które w dniu pozyskiwania nasienia nie wykazują żadnych objawów chorobowych i nie były szczepione przeciwko BHV1.

Analizując przywołane przepisy, należy jednoznacznie stwierdzić, że buhaje w centrach pozyskiwania nasienia nie mogą być szczepione przeciwko BHV1. Odnosi się to również do szczepionek markerowych, które używane są w niektórych krajach Unii Europejskiej w programach zwalczania BHV1. Dlatego w cytowanych przepisach umieszczono zapis, aby w badaniach w kierunku BHV1 były stosowane testy wykrywające przeciwciała dla całego wirusa. Chodzi o to, aby na podstawie przeprowadzonych badań można było stwierdzić, że buhaj nie jest zakażony wirusem dzikim i nie był w ogóle szczepiony przeciwko BHV1.

#### **Wirusowa biegunka bydła i choroba błon śluzowych (BVD/MD)**

W Polsce, w ciągu ostatnich kilku lat, wirus BVD-MD jest coraz częściej diagnozowany jako bezpośrednia przyczyna zachorowań bydła, a niektóre gospodarstwa wdrażają własne programy zwalczania zakażenia w stadzie. Badania prowadzone w Zakładzie Wirusologii mają na celu identyfikację zwierząt zakażonych trwale (PI) i ich eliminację ze stada, opierając się na badaniu próbek pulowanych krwi. Analiza próbek pulowanych pozwala znacząco zmniejszyć koszty badania w przeliczeniu na jedno zwierzę i przyspieszyć identyfikację oraz eliminację osobników trwale zakażonych. Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że odsetek zwierząt zakażonych trwale wirusem BVD-MD jest niski i nie przekracza 1%. Zwierzęta PI dominują w grupie zwierząt młodych (do 2 lat). Etap identyfikacji i usunięcia ze stada zwierząt PI stanowi zaledwie początek programu uwalniania stada od zakażenia wirusem BVD-MD. Konieczny jest ciągły monitoring serologiczny oraz badanie nowo narodzonych cieląt w kierunku zakażenia trwałego przynajmniej przez 1 rok od daty usunięcia ostatniego zwierzęcia PI. Obrót zwierząt (zakupy, wystawy, wspólne pastwiska ze stadami o nieznanym statusie epizootycznym) wymaga nadzoru i badania w kierunku obecności wirusa przy wprowadzaniu zwierząt do stada. Jest to szczególnie istotne w dłuższej perspektywie czasowej, gdy pogłowie zwierząt w danym stadzie stanie się w pełni wrażliwe na zakażenie, to jest po zaniku przeciwciał neutralizujących wirus – chyba że będą stosowane szczepienia. Podstawą wprowadzenia szczepień mogą być problemy kliniczne, prowadzące do znaczących strat ekonomicznych oraz duża rotacja stada, uniemożliwiająca badanie zwierząt wprowadzanych do stada na obecność wirusa.





## ZWALCZANIE CHOROÓB ZAKAŻNYCH ZWIERZĄT JAKO ISTOTNY CZYNNIK FUNKCJONOWANIA PRODUKCJI ZWIERZĘCEJ NA PRZYKŁADZIE WOJEWÓDZTWA WIELKOPOLSKIEGO

### THE FIGHT AGAINST INFECTIOUS DISEASES AS AN IMPORTANT FACTOR IN THE FUNCTIONING OF LIVESTOCK PRODUCTION ON THE EXAMPLE OF PROVINCE WIELKOPOLSKA

**Lesław Szabłoński, Tomasz Wielich**

*Inspekcja Weterynaryjna, Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Poznaniu, ul. Grunwaldzka 250,  
60-166 Poznań, e-mail: poznan.wiw@wetgiw.gov.pl*

Jednym z głównych zadań Inspekcji Weterynaryjnej jest prowadzenie zwalczania chorób zakaźnych zwierząt, co jest wykonywane na podstawie ustawy z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt. Powyższa ustawa określa ramowe zasady zwalczania chorób zakaźnych zwierząt podlegających obowiązkowi zwalczania, co dotyczy 37 jednostek chorobowych, prowadzenia monitoringu tych chorób, jak również określa 38 chorób podlegających obowiązkowi rejestracji.

Powyższe jednostki chorobowe wymienione w ustawie należą do chorób zakaźnych zwierząt, w największym stopniu wpływających na funkcjonowanie produkcji zwierzęcej. Zasady i koszt zwalczania tych chorób wzięło na siebie państwo. Jednocześnie należy zaznaczyć, że koszty zwalczania i prowadzenia badań monitoringowych niektórych chorób zakaźnych są refundowane w części z Unii Europejskiej.

Prowadzenie zwalczania chorób zakaźnych wywiera istotny wpływ na funkcjonowanie produkcji zwierzęcej, w tym zapewnia:

- możliwości obrotu zwierzętami w kraju, w handlu wewnętrznym UE, jak również możliwości wywozu zwierząt do krajów trzecich;
- zdrowotność zwierząt, a poprzez to ich lepszą efektywność produkcji;
- zdrowotność ludzi mających kontakt ze zwierzętami i ich produktami, w tym zdrowotność konsumenta;
- konkurencyjność zdrowych zwierząt na rynku;
- mniejsze koszty produkcyjne, w tym utrzymania i opieki zwierząt wolnych od chorób zakaźnych.

Na terenie woj. wielkopolskiego prowadzone monitoringi chorób zakaźnych zwierząt w ostatnim roku obejmowały wykonanie: 212 000 badań w kierunku enzootycznej białaczki bydła, 173 000 badań w kierunku gruźlicy bydła, 72 000 badań w kierunku brucelozы bydła, 330 000 badań w kierunku choroby Aujeszky'ego. Realizowano również szereg innych monitoringów chorób zakaźnych, w tym: BSE i trzęsawki, grypy ptaków, pomoru świń, pryszczycy, pęcherzykówki, salmonelloz, wścieklizny, IBR/IPV, gorączki Q, choroby niebieskiego języka. W wyniku prowadzonych badań na terenie woj. wielkopolskiego nie stwierdzono chorób zakaźnych zwalczanych w ramach Planów Gotowości, mogących powodować najbardziej dotkliwe straty dla gospodarki. Powyższa, korzystna sytuacja jest podtrzymywana od kilkunastu lat.

W ostatnich latach prowadzone są intensywne działania w kierunku uwolnienia woj. wielkopolskiego od enzootycznej białaczki bydła oraz choroby Aujeszky'ego. Do całkowitego uwolnienia od enzootycznej białaczki bydła w woj. wielkopolskim pozostało w br. 10 powiatów. Sytuacja epizootyczna w zakresie choroby Aujeszky'ego na początku realizacji programu zwalczania w 2008 r. była najbardziej niekorzystna w kraju, a ilość zakażonych stad przekroczyła 5000. Obecnie pozostało 57 stad zakażonych, w których trwa zwalczanie choroby metodą szczepień. Zakłada się likwidację wszystkich powyższych stad w bieżącym roku.

Wielkopolska jest jednym z najważniejszych regionów Polski dla produkcji zwierzęcej ze względu na dużą liczbę stad świń, bydła i drobiu, liczbę zakładów przetwórczych oraz podmiotów zajmujących się obrotem zwierzętami. Zapewnienie skutecznych metod zwalczania chorób zakaźnych oraz prowadzenia badań monitoringowych w tym zakresie zapewnia tym podmiotom możliwość funkcjonowania oraz opłacalności produkcji.



## PROBLEMY ZWIĄZANE Z WDRAŻANIEM PROGRAMU ZWALCZANIA CHOROBY AUJESZKY'EGO U ŚWIŃ NA OBSZARZE WOJEWÓDZTWA LUBUSKIEGO

## PROBLEMS WITH IMPLEMENTATION OF AUJESZKY'S DISEASE ERADICATION PROGRAM IN SWINE ON THE LUBUSKIE AREA

Tadeusz Woźniak, Andrzej Brodowski

Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Zielonej Górze, ul. Botaniczna 14, 65-306 Zielona Góra,  
e-mail: a.brodowski@wet.zgora.pl

W 2006 r. rozporządzeniem Rady Ministrów z dnia 22 czerwca 2006 r. w sprawie wprowadzenia programu zwalczania choroby Aujeszky'ego u świń na obszarze województwa lubuskiego (Dz.U. nr 109, poz. 751) wdrożono pilotażowy program zwalczania tej choroby na obszarze jednego województwa. Głównym jego celem było wstępne rozpoznanie sytuacji epizootycznej odnośnie występowania choroby Aujeszky'ego u świń.

Podczas wdrażania programu wystąpiły trudności m.in.: organizacyjne, prawne, finansowe, czasowe oraz epizootyczne.

- organizacyjne: brak etatów na koordynatorów, brak chętnych lekarzy wet. do pobierania krwi;
- prawne: brak podstaw prawnych między kolejnymi rozporządzeniami oraz do uznania choroby Aujeszky'ego za chorobę zwalczaną z urzędu;
- finansowe i czasowe: opóźnione przyznanie środków finansowych, niezgodność stawek za pobieranie krwi w programie z aktualnym rozporządzeniem MRiRW;
- epizootyczne: niekontrolowane przemieszczenia świń z innych województw – brak świadectw zdrowia dla świń w obrocie krajowym.



## PLANY GOTOWOŚCI ORAZ PODSTAWOWE ZASADY ZWALCZANIA CHOROÓB ZAKAŻNYCH ZWIERZĄT

### CONTINGENCY PLANS AND BASIC PRINCIPLES OF ANIMAL INFECTIOUS DISEASE CONTROL

Sławomir Wypchło-Pomorski

Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Opolu, ul. Wrocławska 170, 45-836 Opole, e-mail: s.wypchlo@wiw.opole.pl

#### I. Zarządzanie kryzysowe w Inspekcji Weterynaryjnej

Czy choroby zakaźne zwierząt mogą wywołać sytuację kryzysową?

Zadanie takiego pytania wydaje się bardzo zasadne, ponieważ wiedza społeczeństwa polskiego jak i innych krajów jest niezwykle mała, jeśli chodzi o tę dziedzinę życia. Zawód lekarza weterynarii jest kojarzony przede wszystkim z leczeniem zwierząt, zarówno tych małych, czyli naszych domowych pupili, jak i tych dużych, hodowanych w celu uzyskania mięsa, mleka itp. produktów, na co dzień przez nas spożywanych. Lecznictwo i profilaktyka zwierząt to tylko niewielki procent działalności wykonywanej przez lekarzy weterynarii. Cóż ponadto? W tym miejscu jest konieczne wyjaśnienie struktur weterynarii i zakresu jej działalności. Od 1989 r. na terenie Polski można rozróżnić dwa piony działalności weterynarii. Pierwszy to właśnie lecznictwo i profilaktyka zwierząt gospodarskich i domowych – lekarze weterynarii posiadający status wolnego zawodu. Drugim pionem są lekarze weterynarii, którzy posiadają status urzędnika państwowego i są zatrudnieni w Inspekcji Weterynaryjnej.

#### Czym zatem zajmuje się Inspekcja Weterynaryjna?

Statutowa działalność Inspekcji Weterynaryjnej opiera się na Ustawie z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (tekst jednolity Dz. U. z 2007 Nr 121, poz. 842 ze zmianami). Artykuł 3 tej ustawy określa zadania Inspekcji i wart jest bezpośredniego przytoczenia, ponieważ w sposób hasłowy uświadamia, jak jest to duży zakres uprawnień i obowiązków, a tym samym odpowiedzialności spadającej na lekarzy weterynarii zatrudnionych w jej strukturach. Oto on:

„**Art. 3.** 1. Inspekcja realizuje zadania z zakresu ochrony zdrowia zwierząt oraz bezpieczeństwa produktów pochodzenia zwierzęcego w celu zapewnienia ochrony zdrowia publicznego.

2. Inspekcja wykonuje swoje zadania w szczególności przez:

1) zwalczanie chorób zakaźnych zwierząt, w tym chorób odzwierzęcych;

1a) badania kontrolne zakażeń zwierząt;

2) monitorowanie chorób odzwierzęcych i odzwierzęcych czynników chorobotwórczych oraz związanej z nimi oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe u zwierząt, w produktach pochodzenia zwierzęcego i środkach żywienia zwierząt;

3) badanie zwierząt rzeźnych oraz produktów pochodzenia zwierzęcego;

4) przeprowadzanie:

a) weterynaryjnej kontroli granicznej,

b) kontroli weterynaryjnej w handlu i wywozie zwierząt oraz produktów w rozumieniu przepisów o kontroli weterynaryjnej w handlu;

5) sprawowanie nadzoru nad:

a) bezpieczeństwem produktów pochodzenia zwierzęcego, w tym nad wymaganiami weterynaryjnymi przy ich produkcji, umieszczaniu na rynku oraz sprzedaży bezpośredniej,

b) wprowadzaniem na rynek zwierząt i ubocznych produktów pochodzenia zwierzęcego,

c) wytwarzaniem, obrotem i stosowaniem środków żywienia zwierząt,

d) zdrowiem zwierząt przeznaczonych do rozrodu oraz jakością zdrowotną materiału biologicznego, jaj wylęgowych drobiu i produktów akwakultury,



- e) obrotem produktami leczniczymi weterynaryjnymi, wyrobami medycznymi przeznaczonymi dla zwierząt oraz warunkami ich wytwarzania,
- f) wytwarzaniem i stosowaniem pasz leczniczych,
- g) przestrzeganiem przepisów o ochronie zwierząt,
- h) przestrzeganiem zasad identyfikacji i rejestracji zwierząt oraz przemieszczaniem zwierząt,
- i) przestrzeganiem wymagań weterynaryjnych w gospodarstwach utrzymujących zwierzęta gospodarskie;
- 6) prowadzenie monitorowania substancji niedozwolonych, pozostałości chemicznych, biologicznych, produktów leczniczych i skażeń promieniotwórczych u zwierząt, w ich wydzielinach i wydalinach, w tkankach lub narządach zwierząt, w produktach pochodzenia zwierzęcego, w wodzie przeznaczonej do pojenia zwierząt oraz środkach żywienia zwierząt;
- 7) prowadzenie wymiany informacji w ramach systemów wymiany informacji, o których mowa w przepisach Unii Europejskiej.

3. Inspekcja wykonuje zadania, o których mowa w ust. 1 i 2, na podstawie przepisów odrębnych.

4. Na terenach i w stosunku do jednostek organizacyjnych podległych i nadzorowanych przez Ministra Obrony Narodowej oraz jednostek wojsk obcych przebywających na tych terenach zadania określone w ust. 1 wykonuje Szef Służby Weterynaryjnej – Inspektor Weterynaryjny Wojska Polskiego.

5. Szef Służby Weterynaryjnej – Inspektor Weterynaryjny Wojska Polskiego wykonuje swoje zadania przy pomocy Wojskowej Inspekcji Weterynaryjnej.

6. Szef Służby Weterynaryjnej – Inspektor Weterynaryjny Wojska Polskiego lub osoba przez niego upoważniona może uczestniczyć w prowadzonej przez organy Inspekcji:

1) weterynaryjnej kontroli granicznej środków transportu, w tym okrętów i statków powietrznych wykorzystywanych do przewozu zwierząt lub produktów pochodzenia zwierzęcego na potrzeby Sił Zbrojnych Rzeczypospolitej Polskiej oraz wojsk obcych;

2) kontroli zakładów zaopatrujących lub ubiegających się o zaopatrywanie Sił Zbrojnych Rzeczypospolitej Polskiej w produkty pochodzenia zwierzęcego.”

Kolejnym aktem prawnym, który wskazuje uprawnienia Inspekcji Weterynaryjnej, jest Ustawa o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (tekst jednolity: Dz. U. z 2008 r. Nr 213, poz. 1342).

Właśnie te dwa główne akty prawne wraz z innymi ustawami i rozporządzeniami wykonawczymi oraz przepisami Unii Europejskiej, które działają wprost na terenie kraju, określają zadania, jakie ma do wykonania Inspekcja Weterynaryjna w sytuacjach określonych mianem kryzysowych.

## II. Epizootie, czyli wystąpienie chorób zwierząt mających wpływ na zdrowie i życie zwierząt oraz ludzi

Swobodne, częste i szybkie przemieszczanie się ludzi, zwierząt, towarów i usług sprzyja rozprzestrzenianiu się chorób zakaźnych zwierząt mających wpływ na zdrowie i życie zwierząt, ludzi oraz na sytuację gospodarczą kraju, w którym konkretna jednostka chorobowa wystąpiła. Warto przypomnieć sobie, jakie utrudnienia w ruchu ludności, w handlu i eksporcie oraz jakie straty gospodarcze przyniosło wystąpienie pryszczycy w Wielkiej Brytanii i Francji pod koniec ubiegłego wieku. Podobnie było, nie w odległej przeszłości, ale w 2007 r., gdy na terenie Polski, została stwierdzona wysoce zjadliwa grypa ptaków.

Choroby zwierząt podlegające zwalczaniu oraz choroby odzwierzęce, które stanowią zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi, muszą być stale monitorowane i likwidowane w miejscu ich pierwotnego wystąpienia, ponieważ ich niekontrolowane rozprzestrzenianie powoduje wprost proporcjonalne zwiększenie zachorowań zwierząt, ludzi oraz dynamiczne straty dla gospodarki krajów, gdzie dana choroba wystąpiła. Jest to właśnie zadanie główne, jakie spoczywa na Inspekcji Weterynaryjnej, gdyż niekontrolowane wystąpienie omawianych chorób może spowodować sytuację kryzysową obejmującą swoim zasięgiem nie tylko poszczególne region, kraj, kontynent ale i znaczącą większość świata, co określa się mianem panzootii.

### Jakie skutki może wywołać wystąpienie choroby zwierząt podlegającej obowiązkowi zwalczania?

Są to między innymi:

- ograniczenia w ruchu ludności i pojazdów;
- likwidacja (zabicie, ubój) od kilku do kilkuset tysięcy sztuk zwierząt, co powoduje znaczące straty gospodarcze w postaci upadłości gospodarstw, zakładów przemysłowych zajmujących się przetwarzaniem środków pochodzenia zwierzęcego, zwiększenie bezrobocia;



- wydatkowanie z budżetu państwa znacznych środków finansowych związanych ze zwalczaniem choroby i wypłatą odszkodowań dla hodowców zwierząt;
- niekontrolowany wzrost cen artykułów spożywczych;
- ograniczenia w handlu i eksporcie zwierząt i artykułów spożywczych pochodzenia zwierzęcego;
- spadek dochodów skarbu państwa, a tym samym ograniczenie wydatków na inwestycje, instytucje finansowane z budżetu państwa;
- spadek dochodów z turystyki związanej z ograniczeniem ruchu ludności i strachem przed zachorowaniem lub rozwleczeniem choroby.

### III. Monitorowanie zagrożeń występowania chorób zwierząt oraz czynników je wywołujących

Stały monitoring chorób zwierząt oraz czynników je wywołujących jest niezbędny w celu przedsięwzięcia stosownych działań, które zminimalizują ich rozprzestrzenienie. Główne jednostki chorobowe i czynniki chorobotwórcze podlegające zwalczaniu, rejestrowaniu oraz monitorowaniu zawierają załączniki 2, 3 i 5 do Ustawy o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt.

Kontroli podlegają zarówno żywe zwierzęta, jak również środki żywienia zwierząt oraz środki spożywcze pochodzenia zwierzęcego według zasady „od wideł do widelca”. Tym samym na każdym etapie produkcji pasz, żywności oraz przemieszczenia zwierząt zapewniony jest nadzór i kontrola nad produkowanym asortymentem. Nadzór ten i odpowiedzialność, w świetle obowiązujących przepisów, spoczywa na producencie i dystrybutorze we wszystkich sektorach związanych z produkcją żywności, tj. od produkcji podstawowej (np. środki żywienia zwierząt, zwierzęta) do produktu końcowego (przetworzony środek spożywczy pochodzenia zwierzęcego, np. mięso, mleko, jogurty, masło itd.) Kontrola i egzekwowanie właściwych zachowań producentów i utrzymania parametrów zdrowotności zwierząt i żywności spoczywają właśnie na Inspekcji Weterynaryjnej, która została wyposażona przez ustawodawcę w szereg instrumentów wymuszających na producentach postępowanie zgodne z obowiązującymi przepisami. Są to m.in. nakładanie mandatów, grzywnien, kierowanie spraw do organów ścigania z oskarżenia publicznego, wstrzymanie lub zakaz produkcji, wydawanie rozporządzeń (jedyna inspekcja, która może takie akty prawne wydawać w celu zapobieżenia rozprzestrzenianiu się oraz likwidacji ognisk chorób zakaźnych zwierząt).

Monitorowanie występowania chorób zakaźnych zwierząt oraz czynników chorobotwórczych je wywołujących to również przepływ informacji o ich wystąpieniu. Informacje te muszą być przekazywane w sposób szybki i jasny, aby zostały podjęte stosowne działania wszystkich służb odpowiedzialnych za zdrowie i życie ludzi, co jest celem nadrzędnym w ich funkcjonowaniu.

Swobodny przepływ towarów i usług pomiędzy krajami Unii Europejskiej, jak również państwami stowarzyszonymi powoduje, że przeniesienie chorób z kraju do kraju może się odbyć w bardzo krótkim czasie. Tym samym informacje, które muszą towarzyszyć przesyłkom zwierząt i środków spożywczych, powinny jasno określać producenta, miejsce wysyłki i miejsce przeznaczenia.

W przypadku żywności są one zawarte w handlowym dokumencie identyfikacyjnym (HDI), opakowaniu zbiorczym oraz jednostkowym. Zatem na każdym etapie produkcji lub dystrybucji towarów jest możliwość prześledzenia drogi, jaką odbył produkt od stadium produkcji pierwotnej do produktu końcowego trafiającego do konsumenta. Ma to istotne znaczenie w przypadku stwierdzenia na jednym z etapów produkcji lub dystrybucji środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego albo środków żywienia zwierząt czynnika chorobotwórczego stwarzającego zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi oraz zwierząt. Elementem wspomagającym i umożliwiającym szybkie działanie służb odpowiedzialnych za zdrowie publiczne jest europejski, elektroniczny system wczesnego ostrzegania o niebezpiecznych produktach i paszach – RASFF. Pozwala on na niemal natychmiastowe wycofanie z rynku artykułów, które mogą stanowić zagrożenie epidemiologiczne, epizootyczne lub zdrowotne, a tym samym być czynnikiem stwarzającym wystąpienie sytuacji kryzysowej wymykającej się spod kontroli.

W przypadku monitoringu występowania chorób zwierząt podlegających zwalczaniu i notyfikacji w Unii Europejskiej takim systemem elektronicznego powiadamiania o ich wystąpieniu jest ADNS. Pozwala on na powiadomienie właściwych terytorialnie powiatowych lekarzy weterynarii oraz ich odpowiedników w krajach UE o każdym nowym ognisku konkretnej jednostki chorobowej. Tym samym zarówno powiatowy lekarz weterynarii, jak i wojewódzki oraz Główny Lekarz Weterynarii mogą podjąć decyzje przeciwdziałające wprowadzeniu wektora choroby na teren, kraju, województwa, powiatu.





Kolejnym systemem elektronicznym, który umożliwia kontrolę nad rozprzestrzenianiem się chorób zakaźnych zwierząt oraz czynników je wywołujących, jest system powiadamiania o przesyłkach zwierząt żywych, materiału biologicznego i odpadach kategorii „I” oraz „II” tzw. niebezpiecznych. Jest to tzw. TRACES, podobnie jak wcześniej przytoczone systemy działający przez całą dobę. Pozwala on na śledzenie drogi przemieszczania się przesyłki od punktu wyjścia do punktu docelowego. Umożliwia również weryfikację danych zawartych w świadectwie zdrowia towarzyszącym przesyłce z wersją elektroniczną wprowadzoną do systemu przez właściwego terytorialnie urzędowego lekarza weterynarii. Oba te dokumenty powinny być identyczne. Tym samym zarówno graniczni dla UE lekarze weterynarii, jak i właściwi dla miejsca docelowego przesyłki urzędowi lekarze weterynarii mogą zastosować niezbędne środki przeciwdziałające wprowadzeniu na teren Unii Europejskiej lub nadzorowanego terytorium groźnego czynnika chorobotwórczego. Ponadto elementem wspomagającym kontrolę przemieszczania przesyłek zwierząt w transporcie długotrwałym (powyżej 8 godzin) na terenie Unii Europejskiej jest nałożony przez Rozporządzenie UE 1/2005 obowiązek montowania w pojazdach przewożących żywe zwierzęta systemu nawigacji satelitarnej (GPS0 oraz elektronicznego rejestratora otwierania klapy załadunkowej na pojeździe). Dane z tych rejestratorów umożliwiają porównanie danych deklarowanych przez wysyłającego zwierzęta oraz przewoźnika do stanu zastanego – faktycznego i w przypadku ich niezgodności wszczęcie postępowania administracyjnego – wyjaśniającego, a tym samym przeanalizowanie możliwości zawleczenia choroby zakaźnej zwierząt.

#### **IV. Zwalczanie ognisk chorób zakaźnych zwierząt podlegających obowiązkowi zwalczania i notyfikacji w Unii Europejskiej**

Zwalczanie chorób zakaźnych zwierząt w naszym kraju oparte jest na przepisach Unii Europejskiej i prawodawstwie krajowym.

Przepisami Unii Europejskiej, które są aktami nadrzędnymi w stosunku do prawa krajowego i działają wprost, są rozporządzenia lub decyzje. W przypadku dyrektyw muszą być one transponowane do prawodawstwa krajowego. Układ taki powoduje ujednoczenie postępowania w przypadku wystąpienia choroby zakaźnej zwierząt, jak również wpływa na skrócenie czasu jej wygaszenia na terenie całej Europy.

Prawo polskie stosowane w przypadku wystąpienia omawianych chorób oparte jest przede wszystkim na takich elementach jak:

- Ustawa o Inspekcji Weterynaryjnej;
- Ustawa o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt;
- rozporządzenia wykonawcze do poszczególnych jednostek chorobowych podlegających zwalczaniu;
- krajowych, wojewódzkich i powiatowych planach zwalczania chorób zakaźnych zwierząt, których tworzenie i stosowanie wynika z art. 54 ustawy o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt i rozporządzenia wykonawczego;
- rozporządzenia ustanawiające obowiązek współpracy pomiędzy organami państwa, samorządu terytorialnego, inspekcji i służb przy zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt.

Wszystkie wymienione wyżej akty prawne stanowią swoistą procedurę postępowania w przypadku wystąpienia chorób zakaźnych zwierząt podlegających zwalczaniu, a także chorób odzwierzęcych stanowiących zagrożenie epizootyczne i epidemiologiczne.

##### **Co to są Plany Gotowości Zwalczania Chorób Zakaźnych Zwierząt?**

Plany Gotowości Zwalczania Chorób Zakaźnych Zwierząt są to jednolite dla całego kraju, zatwierdzone przez Unię Europejską procedury postępowania Inspekcji Weterynaryjnej i współpracujących służb, inspekcji i straży na ewentualność stanu zagrożenia lub wystąpienia najgroźniejszych jednostek chorobowych podlegających zwalczaniu.

Plany Gotowości są także wzorcem dla współpracujących służb, inspekcji i straży w przygotowaniu ich planu na ewentualność stanu zagrożenia i wystąpienia choroby.

Polski Weterynaryjny Plan Zwalczania stanowi integralną całość z Wojewódzkim i Powiatowym Planem. Tworzenie, aktualizacja i realizacja poszczególnych planów spoczywają na powiatowym, wojewódzkim i Głównym Lekarzu Weterynarii, w zakresie swojej właściwości. Główny Lekarz Weterynarii przedstawia do zatwierdzenia Komisji Europejskiej krajowe plany gotowości zwalczania chorób zakaźnych zwierząt oraz niezwłocznie informuje Komisję Europejską o zmianach dokonanych w zatwierdzonych planach.



Plany Gotowości, zgodnie z ustawą, zawierają w szczególności: wykaz aktów prawnych dotyczących zwalczania choroby zakaźnej zwierząt, opis choroby zakaźnej zwierząt, określenie sposobu i źródeł finansowania zwalczania choroby zakaźnej zwierząt, określenie struktury i organizacji zespołów kryzysowych powiatowego lekarza weterynarii, wojewódzkiego lekarza weterynarii i Głównego Lekarza Weterynarii, określenie zadań dotyczących zwalczania choroby zakaźnej zwierząt oraz organów, jednostek organizacyjnych i innych podmiotów odpowiedzialnych za realizację tych zadań, plany szkoleń pracowników Inspekcji Weterynaryjnej oraz innych jednostek i podmiotów, opis sposobu i zakresu opracowania oraz przekazywania informacji.

Plany sporządzane są w jednolitej wersji elektronicznej oraz w formie dokumentacji „papierowej”.

Każdy plan ma określony, identyczny układ logiczny dokumentacji:

1. Strona tytułowa
2. Spis treści
3. Zasady tworzenia
4. Wstęp
5. Uzasadnienie do tworzenia Planu Gotowości Zwalczania
6. Podstawy prawne
7. Ogólne informacje o chorobie
8. Zasady finansowania zwalczania
9. Łańcuch decyzyjny
10. Zadania związane z utrzymaniem gotowości zwalczania oraz zwalczanie na poziomie powiatu
11. Działania podejmowane na poziomie powiatu zmierzające do utrzymania gotowości zwalczania oraz w przypadku podejrzenia wystąpienia – potwierdzenia lub wykluczenia wystąpienia
12. Zwalczanie i eradykacja
13. Strategia wyjścia
14. Public relation
15. Szkolenia
16. Słowniki pojęć i skrótów

Jest to niezwykle istotne, gdyż przejrzystość, dostępność, jak również ujednolicone postępowanie uznawane są za kluczowe w zakresie reagowania na kryzys – wystąpienie choroby zakaźnej zwierząt.

Organem wiodącym przy zwalczaniu zakaźnych chorób zwierząt jest właściwy terytorialnie powiatowy, wojewódzki i Główny Lekarz Weterynarii. Jednakże organem odpowiedzialnym za zwalczanie chorób zakaźnych podlegających zwalczaniu jest właściwy terytorialnie wójt/burmistrz, starosta powiatu lub wojewoda. W przypadku kiedy jednostka chorobowa obejmuje co najmniej dwa województwa albo tereny przygraniczne sąsiadujących ze sobą krajów odpowiedzialnym za jej zwalczenie staje się Premier Rzeczypospolitej Polskiej. Osoby te są również koordynatorami współdziałania wszystkich służb działających w akcji zwalczania choroby. Zarządzanie związane ze zwalczaniem choroby odbywa się z poziomu gminnego, powiatowego, wojewódzkiego lub krajowego Centrum Bezpieczeństwa i Zarządzania Kryzysowego, natomiast ze strony merytorycznej powiatowy, wojewódzki oraz Główny Lekarz Weterynarii powołują Zespół Kryzysowy przy powiatowym, wojewódzkim i Głównym Lekarzu Weterynarii.

Główne działania związane ze zwalczaniem choroby, co należy podkreślić, są prowadzone na poziomie powiatu, który jest bezpośrednio odpowiedzialny za działania likwidujące ogniska choroby. Szczegółowe wojewódzki i centralny (krajowy) prowadzą przede wszystkim działania koordynujące i kontrolne w stosunku do powiatowych lekarzy weterynarii (wojewódzki i Główny Lekarz Weterynarii) oraz starostów powiatów (województwie i premier).

Powiatowy lekarz weterynarii z mocy ustawy może wydawać według swojej właściwości terytorialnej rozporządzenia, które określają warunki zwalczania choroby, likwidacji ognisk, ograniczenia w ruchu osób, zwierząt oraz inne wymienione w stosownych rozporządzeniach określających sposób zwalczania konkretnej jednostki chorobowej. W przypadku kiedy zasięg choroby wykracza poza jeden powiat, rozporządzenie wydaje właściwy wojewoda, a gdy swoim zasięgiem obejmuje minimum dwa województwa – premier.

Niezwykle istotną rolę w zwalczaniu omawianych chorób zakaźnych odgrywają starosta powiatu, wojewoda i premier, ponieważ są organami koordynującymi działania wszystkich służb, inspekcji i innych urzędów uczestniczących w likwidacji ognisk choroby. Zaznaczyć tu należy, że w przeważających przypadkach





okres likwidacji ognisk choroby wynosi 30 dni. Wymaga to zatem dużego zaangażowania logistycznego związanego z zapewnieniem m.in. uwzględnienia rotacji osób pracujących bezpośrednio przy zwalczaniu ognisk choroby, zabezpieczenia stref zapowietrzonych i zagrożonych chorobą, zapewnienia noclegów, wyżywienia, środków ochrony osobistej niezbędnych do prowadzenia akcji, szczepień profilaktycznych ludności, jeśli taka konieczność występuje, środków transportu do przewozu zwierząt padłych lub zabitych z nakazu powiatowego lekarza weterynarii oraz innych działań, które są niezbędne do szybkiego i skutecznego zwalczania choroby.

Pośród służb i inspekcji, oczywiście wliczając w to Inspekcję Weterynaryjną oraz lekarzy weterynarii wolnej praktyki, którzy zostają powołani do zwalczania choroby, należy tu wymienić przede wszystkim :

- Policję,
- Państwową Straż Pożarną,
- Ochotniczą Straż Pożarną,
- Państwową Inspekcję Sanitarną,
- Straż Miejską,
- zarządy dróg (gminne, powiatowe, krajowe),
- Inspekcję Transportu Drogowego,
- Wojsko Polskie,
- Inspekcję Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych,
- inne jednostki, które w trakcie prowadzenia działań okażą się niezbędne w zakresie swoich kompetencji do prowadzenia działań związanych z likwidacją ognisk choroby.

## V. Polityka medialna a zwalczanie chorób zakaźnych zwierząt

Elementem niezbędnym a niedocenianym przy zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt jest prawidłowo prowadzona polityka medialna.

Informacje o kryzysie są dla mediów niezwykle ważne, ponieważ w dziennikarstwie „dobra informacja to zła informacja”. Sensacja dobrze się sprzedaje, większa oglądalność i poczytność prasy. W związku z powyższym, informacje związane z wystąpieniem choroby zakaźnej zwierząt, która ma wpływ na życie społeczeństwa, powinny podlegać następującym zasadom:

- sprawdzone i zgodne ze stanem faktycznym, ponieważ przekłamania tylko podsycają atmosferę niepewności i rodzą spekulacje dziennikarskie;
- podawane z jednego, stałego źródła gdyż mnogość wypowiedzi prowadzi do chaosu medialnego (odwrotną tendencję można zaobserwować wśród polityków, którzy na bazie kryzysu chcą budować swoje zaplecze wyborcze);
- winny być przekazywane o jednej stałej porze;
- zawierać informacje o faktach, działaniach dokonanych oraz planowanych;
- przygotowywane przez osoby merytoryczne (oficer lub rzecznik prasowy);
- język informacji musi być prosty i czytelny dla każdego odbiorcy bez względu na posiadane wykształcenie;
- nie mogą rodzić paniki w społeczeństwie, bo ta prowadzi do działań nieprzewidywalnych.

Warto przede wszystkim pamiętać, że dziennikarz nie jest fachowcem w wielu dziedzinach związanych ze zwalczaniem sytuacji kryzysowej i w związku z tym należy tłumaczyć wszelkie zawiłości związane z podejmowanymi działaniami.

Dobry kontakt z mediami to połowa sukcesu w walce z likwidowaniem kryzysu spowodowanego wystąpieniem chorób zakaźnych zwierząt oraz chorób odzwierzęcych.

### Pismienictwo:

- [1] Ustawa z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (tj. Dz. U. z 2008 r. nr 213 poz. 1342).
- [2] Ustawa z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (tj. Dz. U. z 2007r. nr 121, poz. 842, z 2008 r. poz. 916 nr195 poz.1201 z 2009 r. Dz. U. Nr 20 poz. 105).
- [3] Plany Gotowości Zwalczania Chorób Zakaźnych Zwierząt.



## AKTUALNA SYTUACJA, DZIAŁANIA I PLANY INSPEKCJI WETERYNARYJNEJ W ODNIESIENIU DO NADZORU NAD ZDROWIEM STAD BYDŁA W POLSCE

### THE PRESENT AND FUTURE THE VETERINARY INSPECTION SERVICE IN CONTROL OF THE CATTLE HEALTH IN POLAND

Janusz Związek

Główny Inspektorat Weterynarii, ul. Wspólna 30, 00-930 Warszawa

Mimo iż w Polsce od wielu lat utrzymuje się spadkowa tendencja w pogłowie bydła, hodowla tych zwierząt jest wciąż ważną gałęzią rolnictwa. Na przestrzeni lat, prowadząc intensywne programy zwalczania chorób zakaźnych zwierząt, Inspekcja Weterynaryjna osiągnęła sukcesy w postaci m.in.: uznania Polski przez Komisję Europejską w 2009 r. za kraj oficjalnie wolny od gruźlicy bydła i brucelozę bydła, a także całkowitego wyeliminowania niektórych chorób, np.: pryszczycy (nie jest notowana od lat 70. XX wieku) i księgosuszu (nienotowany od lat 20. XX wieku).

Obecnie, na terytorium naszego kraju Inspekcja Weterynaryjna prowadzi intensywne prace zmierzające do oficjalnego uznania Polski za kraj wolny od enzoptycznej białaczki bydła. Dzięki osiągnięciom programu zwalczania tej choroby jaki był prowadzony do roku 2010, ponad 80% terytorium Polski uzyskało status oficjalnie wolny od enzoptycznej białaczki bydła nadany decyzjami Komisji Europejskiej. Aktualnie, do uzyskania statusu dążą już jedynie województwo zachodniopomorskie oraz niektóre powiaty województwa pomorskiego i wielkopolskiego.

Polskie władze weterynaryjne prowadzą od 2001 r. regularny monitoring gąbczastej encefalopatii u bydła. Dzięki zadowalającej sytuacji epizootycznej Polska znalazła się w grupie państw członkowskich Unii Europejskiej upoważnionych do zmiany systemu monitoringu. Zgodnie z przepisami Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE), Polska jest krajem o kontrolowanym ryzyku wystąpienia BSE.

Ważną w kwestii nadzoru nad zdrowiem nie tylko bydła, ale także małych przeżuwaczy jest choroba niebieskiego języka. Nie wystąpiła ona nigdy na terytorium Polski, lecz liczba przypadków w krajach unijnych wpłynęła na rozpoczęcie w 2009 r. programu wykrywania występowania zakażeń wirusem choroby niebieskiego języka.

Mimo osiągnięcia wielu sukcesów na polu zwalczania chorób zakaźnych, Inspekcja Weterynaryjna ma jeszcze do podjęcia dużo działań. Jednym z nich jest wprowadzenie dobrowolnego programu zwalczania zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy/otrętu bydła (IBR/IPV) w stadach mlecznych. Podobnie sprawy mają się z wirusową biegunką bydła i chorobą błon śluzowych (BVD MD). Ta jednostka chorobowa została uwzględniona w projekcie rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie określenia wykazu chorób zakaźnych zwierząt podlegających obowiązkowi rejestracji. W opinii hodowców jest coraz częściej stwierdzaną jednostką chorobową i postulowane jest opracowanie i wdrożenie programu zwalczania tej choroby. Włącznie BVD MD do wykazu chorób rejestrowanych umożliwi oficjalne rozpoznanie skali tego problemu.

Ważną chorobą, na którą służby weterynaryjne zwracają uwagę jest gorączka Q. Sytuacja z Holandii sprzed kilku lat pozwoliła naszej Inspekcji Weterynaryjnej na nowe spojrzenie na kwestie likwidacji tej jednostki chorobowej.

Kolejnym wyzwaniem jest też wirus Schmallerberg. Mimo iż nie wykryto jego obecności na terytorium Polski, służby weterynaryjne postawione są w stanie najwyższej gotowości i uważnie monitorują rozwój sytuacji w innych krajach.

Przed Inspekcją Weterynaryjną stoi wiele wyzwań. Mimo iż uporaliśmy się z wieloma chorobami zakaźnymi zwierząt, wciąż odkrywamy nowych „wrogów” i musimy z nimi walczyć.

**SEKCJA  
FARMAKOLOGII  
I TOKSYKOLOGII**





## FLUROCHINOLONY – INTERAKCJE NA ETAPIE WCHŁANIANIA Z PRZEWODU POKARMOWEGO

### FLUROQUINOLONONES – INTERACTIONS AT THE STAGE OF ABSORPTION FROM THE GASTROINTESTINAL TRACT

**Jerzy Jaroszewski, Hubert Ziółkowski, Agnieszka Jasiecka, Tomasz Maślanka,  
Włodzimierz Markiewicz**

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii i Toksykologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: jerzyj@uwm.edu.pl*

Flurochinolony są grupą chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych, powszechnie stosowaną u ludzi i zwierząt. Aktualnie w medycynie weterynaryjnej stosowane są: flumechina, enrofloksacyna, norfloksacyna, marbofloksacyna, danofloksacyna, difloksacyna, orbifloksacyna, ibafloksacyna, pradofloksacyna i sarafloksacyna. Leki te w większości charakteryzują się szerokim spektrum działania (bakterie Gram-ujemne i Gram-dodatnie, mikoplazmy, chlamydia, riketsje, niektóre pierwotniaki) oraz dobrymi właściwościami farmakokinetycznymi.

Efektywność chemioterapii przeciwbakteryjnej zwiększa stosowanie leczenia wspomagającego. Jednakże politerapia skutkuje większym ryzykiem wystąpienia interakcji leków, które mają złożony charakter i mogą zachodzić na wielu poziomach. Konsekwencją może być zmniejszenie efektu terapeutycznego lub zwiększenie działań niepożądanych. W zależności od mechanizmu mogą wystąpić interakcje fizykochemiczne, farmakokinetyczne i farmakodynamiczne. Interakcje farmakokinetyczne wydają się mieć najbardziej istotne znaczenie i mogą pojawić się podczas fazy absorpcji, dystrybucji, metabolizmu i eliminacji leków. Wchłanianie flurochinolonów stosowanych *per os* może być modyfikowane przez różnorodne czynniki (np. obecność pokarmu, równoczesne stosowanie leków zmieniających motorykę przewodu pokarmowego lub pH). Powszechnie wiadomo, że flurochinolony mogą mieć ograniczoną biodostępność w wyniku chelatacji z kationami dwu- i trójwartościowymi. Wykazano m.in., że równoczesne podanie enrofloksacyny i laktoglukonianu wapnia bezpośrednio do wola istotnie zmniejsza wchłanianie flurochinolonu u kurcząt brojlerów, natomiast efektu takiego nie obserwowano po zachowaniu 2-godzinnego odstępu pomiędzy podaniem obu leków. W badaniach własnych wykazano, że laktoglukonian wapnia zmniejsza wchłanianie enrofloksacyny u kurcząt brojlerów tylko o ok. 10%, podczas gdy równoczesne podanie chlorku wapnia i chlorku magnezu zmniejsza biodostępność odpowiednio o 50 i 60%. Z kolei w badaniach przeprowadzonych na indykach wykazano, że równoczesne podanie do wola enrofloksacyny i preparatu witaminowo-mineralnego Calcimyl zmniejsza wchłanianie enrofloksacyny o ponad 30%, podczas gdy nieograniczony dostęp do pokarmu hamuje wchłanianie o ok. 50%. Podobny hamujący wpływ pokarmu na wchłanianie enrofloksacyny, norfloksacyny i flumechiny, podanej bezpośrednio do wola, obserwowano u kurcząt brojlerów. Hamujący wpływ jonów można tłumaczyć tym, że kompleks flurochinolon-kation jest nierozpuszczalny, co zmniejsza jego absorpcję jelitową. Ponadto, powstałe chelaty są większe oraz mają inną geometrię przestrzenną niż wolne leki. Biorąc pod uwagę fakt, że flurochinolony są transportowane do wnętrza komórki prawdopodobnie przez wąskie przestrzenie międzykomórkowe w nabłonku jelitowym lub za pomocą ułatwionej dyfuzji przez kanały porynowe, większy rozmiar i odmienna geometria kompleksu może zmniejszać dyfuzję do wnętrza komórki w porównaniu z wolnym lekiem. Natomiast przyjmując, że za absorpcję flurochinolonów odpowiada transport czynny, możliwe jest, iż lek w postaci kompleksu nie jest w stanie połączyć się z odpowiednim nośnikiem.

Podsumowując, można stwierdzić, że biodostępność flurochinolonów w mniejszym bądź większym stopniu jest modyfikowana przez pokarm oraz leki zawierające kationy metali, co może w konsekwencji wpływać na skuteczność terapii przeciwbakteryjnej.



## EKOTOKSYCZNOŚĆ LEKÓW WETERYNARYJNYCH W WARUNKACH POLSKICH

### ECOTOXICITY OF VETERINARY MEDICINES IN POLISH CONDITIONS

Wojciech Karlik, Natalia Dziekan

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Przedklinicznych, Zakład Farmakologii i Toksykologii, e-mail: wojciech\_karlik@sggw.pl*

Badanie wpływu leków weterynaryjnych na środowisko naturalne jest ważnym zagadnieniem nie tylko ze względu na ocenę oddziaływania leków na organizmy gleby lub wody, ale również z powodu problematyki racjonalnej chemioterapii u zwierząt. Wśród leków weterynaryjnych stosowanych w Polsce, podobnie jak w innych krajach UE, dominują chemioterapeutyki przeciwbakteryjne. Ponieważ leki stosowane u zwierząt produkcyjnych łatwo przedostają się do środowiska naturalnego, istnieje obawa, że wysokie stężenie antybiotyków w środowisku przyczynia się do narastania oporności drobnoustrojów. W konsekwencji, może to prowadzić do zmniejszenia skuteczności antybiotykoterapii prowadzonej u zwierząt i ludzi. Powyższa obawa skłania wiele państw (oraz centralne organa UE) do wprowadzania ograniczeń w stosowaniu antybiotyków u zwierząt. Już rok temu pojawiły się propozycje redukcji stosowania antybiotyków: od 10% w ciągu roku (Dania) do nawet 50% w skali kilku lat (Holandia). Zmniejszenie stosowania antybiotyków ograniczy ich podaż do środowiska naturalnego i być może zmniejszy rozwój antybiotykooporności. Nie wiadomo jednak, czy działania takie nie doprowadzą do zmniejszenia efektywności produkcji zwierzęcej, szczególnie w tych krajach, w których średni poziom żywienia i higieny w produkcji jest niższy niż w krajach przodujących. Należy również liczyć się z tym, że odgórnie narzucone ograniczenia w zakresie stosowania antybiotyków doprowadzą do rozwoju szarej strefy stosowania tej grupy leków, zagrażającej jakości żywności pochodzenia zwierzęcego. Nieuzasadnione zmniejszenie stosowania antybiotyków może także prowadzić do powstawania oporności w miejscu leczenia zwierząt.

Redukcja stosowania antybiotyków u zwierząt nie może być narzucona centralnie na poziomie całej UE. Jest oczywiste, że wielkość oraz struktura zużycia antybiotyków u zwierząt silnie zależą od struktury produkcji zwierzęcej, która jest (i powinna być) różna w poszczególnych państwach członkowskich UE. Z analizy zużycia antybiotyków przeciwbakteryjnych w UE widać, że jeśli w danym kraju przeważa produkcja drobiarska, to procentowo zwiększa się liczba stosowanych antybiotyków politerowych i tetracyklin, przy przewadze produkcji świń tetracykliny zaczynają ustępować penicylinom, a przy względnie dużej hodowli bydła zdecydowanie dominują penicyliny i inne antybiotyki beta-laktamowe. Tak jak różna jest struktura zużycia antybiotyków, tak samo różne jest zagrożenie dla środowiska.

Aby właściwie odpowiedzieć na pytanie: czy i w jakim stopniu do racjonalnej chemioterapii weterynaryjnej w Polsce należy wprowadzić regułę redukcji zużycia antybiotyków i uwzględnić ekotoksyczność stosowanego leku, przeprowadzono ocenę zużycia antybiotyków w Polsce u ludzi i zwierząt. Porównano całkowite zużycie oraz zużycie wyrażone w dziennych dawkach (DDD). Analiza wykazała, że hipotetyczne narażenie środowiska ze strony antybiotyków stosowanych u ludzi jest podobne jak narażenie ze strony leków weterynaryjnych. W ocenie narażenia środowiska naturalnego wykazano, że wytyczne EMA (Europejskiej Agencji Leków) dotyczące szacowania ekotoksyczności leków należy dostosować do warunków rolnictwa polskiego. Porównanie analizy teoretycznej i rzeczywistych badań poziomu leków w środowisku wskazuje, że postępowanie proponowane przez EMA daje błędny obraz i prowadzi do przeszacowania zagrożenia środowiska. Wytyczne nie uwzględniają w dostatecznym stopniu specyfiki polskiego rolnictwa, pojemności środowiska naturalnego oraz wielkości rynku leków.

Przeprowadzona w pracy analiza ekotoksyczności leków weterynaryjnych sugeruje, iż generalnie nie musimy się obawiać działania ekotoksycznego ze strony antybiotyków stosowanych w Polsce w weterynarii. W racjonalnej chemioterapii weterynaryjnej nie ma dzisiaj konieczności uwzględniania działania antybiotyków w środowisku, a drastyczny program redukcji zużycia antybiotyków nie musi być w Polsce wprowadzany. Należy skoncentrować się na racjonalnej chemioterapii w odniesieniu do istniejących zasad, na sposobie przechowywania ścieków odziewających przed ich wprowadzeniem na pola oraz nad właściwą dystrybucją ścieków w poszczególnych obszarach kraju.





## PREFERENCJE W WYBORZE NIESTERYDOWYCH LEKÓW PRZECIWPALNYCH (NLPZ) U PSÓW I KOTÓW

### PREFERENCES IN THE NSAIDS SELECTION IN DOGS AND CATS

Cezary Kowalski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, Zakład Farmakologii, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin, [cezary.kowalski@up.lublin.pl](mailto:cezary.kowalski@up.lublin.pl)

Już na początku 1970 r. uznano, że najważniejszym mechanizmem działania niesterydowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) jest hamowanie aktywności enzymu cyklooksygenazy (COX), co prowadzi do upośledzenia syntezy prostaglandyn. Jedynie tepoksalin (Zubrin-Intervet) jest lekiem weterynaryjnym z grupy NLPZ, dla którego udowodniono, że dodatkowo jest inhibitorem kaskady lipooksygenazy (inhibitor syntezy leukotrienów), jednakże jest on rzadko stosowany w dzisiejszym leczeniu. Leki będące inhibitorem lipooksygenazy lub blokujące syntezę leukotrienów są używane jedynie do leczenia astmy u ludzi.

Mimo że występują różnice w wartości współczynników hamowania COX1/COX2 (prawdopodobnie jest to spowodowane różnicami w stosowanych przez laboratoria metodach), leki określane jako „koksoby” (derakosyb, firokoksyb, robenakoksyb, mawakoksyb, cimikoksyb) mają stale wyższe współczynniki (są bardziej selektywne wobec COX2) niż inne leki z grupy NLPZ. Istnieje niewiele dowodów potwierdzających wyższą skuteczność leków z grupy preferencyjnych inhibitorów COX-2. Jednakże badania polegające na dokładnym porównaniu działania leków w weterynaryjnej praktyce klinicznej są rzadkie. Silne działające selektywne inhibitory COX-2 mogą nie być wskazane dla wszystkich pacjentów, ponieważ produkty reakcji enzymatycznych COX-2 mogą być zaangażowane w inne procesy niż stan zapalny.

Podczas wyboru leku do terapii mamy szeroki wachlarz możliwości. Lekarz weterynarii nie powinien kierować się podczas wyboru terapii niepotwierdzonymi efektami ubocznymi stosowania jednego czy drugiego leku. Nie ma wyraźnej korzyści ze stosowania danej grupy leków nad drugą grupą. Każda z grup posiada korzyści jak i działania niekorzystne. Istnieje wiele form aplikacyjnych takich jak: forma iniekcyjna, płyny doustne, tabletki, tabletki szybko rozpuszczalne. Wybór zależy od stanu klinicznego pacjenta oraz ewentualnych preferencji właściciela.

Na ból ostry, podczas użytku śródoperacyjnego, dobre rezultaty obserwuje się przy stosowaniu postaci doustnych i iniekcyjnych. Leki te były stosowane w terapii krótkiej 1–2-dniowej w celu obniżenia gorączki i działania przeciwbólowego w sytuacji zabiegu operacyjnego lub ciężkiego urazu. Przedoperacyjne iniekcje karprofenu u psów wykazały dobroczynny wpływ na znaczne zmniejszenie bólu pooperacyjnego u psów po zabiegu ovariectomii. Meloksikam był badany podczas użytku śródoperacyjnego, gdzie w niektórych przypadkach okazał się skuteczniejszy niż butorfanol.

Doustne NLPZ również mogą być stosowane przy leczeniu ostrego myositis, arthritis oraz przy leczeniu bólu pooperacyjnego lub mogą być ordynowane przy stałej terapii osteoarthritis. Lekarze weterynarii mogą stosować również ludzkie leki takie jak: kwas acetylosalicylowy, piroksydam, naproksen czy diklofenak; oczywiście po uprzednim ustaleniu dawki, konsultacji dotyczącej leczenia podobnego przypadku.

Do stosowania długoterminowego nie ma aktualnie badań, które mogłyby wykazać jakie leki są najbardziej skuteczne, jednakże opisywana jest skuteczność substancji w konkretnych przypadkach klinicznych. Kiedy porównuje się jeden lek z drugim, trudno jest wykazać różnice w skuteczności zwalczania bólu u zwierząt przy użyciu subiektywnych metod oceny efektywności danego preparatu. Bez dużej liczby przypadków możliwość statystycznej oceny skuteczności poszczególnych preparatów jest trudna. Za racjonalne podejście uznaje się zmienne zastosowanie 2 lub więcej preparatów, aby dowiedzieć się, który z leków jest lepiej tolerowany, wykazuje efektywniejsze działanie oraz łatwe podawanie u każdego pacjenta.

Z leków dostępnych dla kotów meloksikam jest stosowany najczęściej, ponieważ terapię można rozpocząć od iniekcji i następnie kontynuować ją preparatami doustnymi. Preparaty doustne są smakowite i przyjmowane przez koty, jednakże dawka powinna być zmniejszona w porównaniu z dawką dla psa. Istnieje dopuszczalna dawka przy terapii długoterminowej u kotów 0,05 mg/kg na dzień doustnie. Dodatkowo stosuje się ketoprofen, aspirynę (z przedłużonymi przerwami) oraz w wyjątkowych okolicznościach inne leki przeznaczone dla psów. Do krótkiej terapii stosowano derakosyb i fluniksę.



## ASPEKTY TOKSYKOLOGICZNE ZWIĄZANE Z WYSTĘPOWANIEM DIOKSYN W PASZACH I ŻYWNOSCI

### TOXICOLOGICAL ASPECTS RELATED TO THE OCCURRENCE OF DIOXINS IN FEED AND FOOD

Jadwiga Piskorska-Pliszczyńska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Radiobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: jagoda@piwet.pulawy.pl

W związku z wysokim potencjałem toksycznym dioksyn od 1999 r. (po aferze belgijskiej) w Europie podjęto działania prowadzące do ograniczenia narażenia populacji europejskiej na toksyczne działanie tej grupy halogenowych węglowodorów aromatycznych. Największe zagrożenia dla zdrowia stanowią osłabienie odporności, wpływ na rozwój osobniczy w okresie organogenezy, a przede wszystkim dysregulacja układu wydzielania wewnętrznego, która prowadzi m.in. do ograniczenia płodności ludzi i zwierząt [1]. Oszacowanie narażenia ludzi na działanie dioksyn wskazuje, że w znacznej części pokarmu europejskiej populacji przekroczona została dopuszczalna dawka tygodniowa dioksyn (TWI, tolerable weekly intake), oszacowana przez Komitet ds. Żywności Wspólnoty Europejskiej na 14 pg TEQ/kg mc/tydzień [2]. Podjęta w tym zakresie strategia UE ma na celu ograniczenie wytwarzania i dalszego gromadzenia w środowisku dioksyn oraz zmniejszenie narażenia ludzi poprzez dietę, w której głównym źródłem dioksyn jest żywność pochodzenia zwierzęcego (ponad 80%) [3].

Produkty uboczne procesów spalania, zwane popularnie dioksynami (PCDD, PCDF i dl-PCB), odporne na fizykochemiczną jak i biologiczną degradację, pozostają w środowisku przez kilkadziesiąt lat. Problem dioksyn w postaci awarii, katastrof, incydentów powracał w Europie wielokrotnie [4]. Te liczne wydarzenia były spowodowane nieumyślnym działaniem człowieka jak i działaniami przestępczymi. Dużym sukcesem zakończyły się wysiłki ograniczenia emisji dioksyn z przemysłowych źródeł spalania [5]. Natomiast brakuje kontroli źródeł pozaprzemysłowych. Problem skażenia dioksynami będzie nadal powracał z powodu permanentnego zanieczyszczania środowiska przez przeciętnego mieszkańca w wyniku niekontrolowanego przydomowego spalania śmieci i odpadów oraz węgla i drewna w paleniskach domowych [6]. Nie będziemy wolni od problemu dioksyn tak długo, jak długo istnieć będzie niska świadomość skutków niefrasobliwego zanieczyszczania środowiska trwałymi związkami organicznymi (TZO), wśród których znajdują się dioksyny i związki pokrewne. W pracy dyskutowane są przyczyny i skutki zdarzeń związanych z dioksynami w Europie i w naszym kraju oraz przedstawione rezultaty prowadzonej kontroli urzędowej żywności i pasz tymi związkami.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Struciński P., Piskorska-Pliszczyńska J., Góralczyk K., Warenik-Bany M., Maszewski S., Czaja K., Ludwicki J. K., 2011. Dioksyny a bezpieczeństwo żywności, *Roczniki PZH*, 62:1, 3–17.
- [2] Scientific Committee for Food, 2000. Opinion of the SCF on the risk assessment of dioxins and dioxin-like PCBs in food. SCF/CS/CNTM/DIOXIN/8 FINAL, Scientific Committee for Food, [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out78\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out78_en.pdf)
- [3] Piskorska-Pliszczyńska J., Maszewski S., Lizak R., Warenik-Bany M., Wijaszka T., 2010. PCDD, PCDF and dl-PCB national food survey in Poland. 30<sup>th</sup> International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Dioxin 2010). 12<sup>th</sup>–17<sup>th</sup> September 2010, San Antonio, TX, USA.
- [4] Piskorska-Pliszczyńska J., 2011. Dioksyny – powracający problem, *Pasze Przemysłowe* 20, 19–26.
- [5] Communication from the Commission to the Council, the European Parliament, the European Economic and Social Committee, 2010. On the implementation of the Community Strategy for dioxins, furans, and polychlorinated biphenyls (COM (2001)593) – Third progress report (COM/2010/0562 final).
- [6] Trwałe zanieczyszczenia organiczne w środowisku. Niska emisja, 2009. Materiały informacyjne IOS Warszawa [http://ks.ios.edu.pl/files/TZOw\\_srodowisku.pdf](http://ks.ios.edu.pl/files/TZOw_srodowisku.pdf)



# TOKSYKOLOGICZNE ASPEKTY STOSOWANIA U ZWIERZĄT LEKÓW WETERYNARYJNYCH

## TOXICOLOGICAL ASPECTS OF VETERINARY DRUGS IN ANIMALS

Teresa Szprengier-Juszkiewicz

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Farmakologii I Toksykologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: szpre@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Stosowanie weterynaryjnych produktów leczniczych jest nieodłącznym warunkiem powodzenia hodowli zwierząt. Preparaty lecznicze wykonywane są w celach terapeutycznych, profilaktycznych oraz do zwiększenia efektywności hodowli. Do leków podawanych zwierzętom, podobnie jak w leczeniu ludzi, należą: chemioterapeutyki przeciwbakteryjne, leki przeciw pasożytnicze, przeciwzapalne, przeciwbólowe, uspokajające, środki dezynfekcyjne oraz biopreparaty (szczepionki i surowice) i inne. Następstwem stosowania weterynaryjnych produktów leczniczych u zwierząt są nie tylko zamierzone i oczekiwane efekty terapeutyczne, lecz także niezamierzone, a często niekorzystne skutki związane z ubocznym, niepożądanym działaniem leków na zwierzęta, człowieka czy środowisko przyrodnicze. Należy się również liczyć z możliwością wystąpienia przypadków nieoczekiwanych, zwykle trudnych do diagnozowania, a nierzadko obejmujących duży obszar i liczną grupę narażonych.

**Cel pracy:** Analiza (omówienie) ewentualnego, niekorzystnego wpływu stosowanych substancji farmakologicznie czynnych, na zdrowie zwierząt – pacjentów, ludzi – użytkowników i konsumentów oraz środowisko.

**Materiał i metody:** Unormowania prawne, zalecenia i wytyczne prowadzenia badań, wyniki badań, wyniki obserwacji działań niepożądanych, informacje z publikacji i doniesienia z terenu.

**Wyniki i omówienie:** Zgodnie z aktualnym prawodawstwem polskim i wspólnotowym [1] rejestrowane weterynaryjne produkty lecznicze powinny mieć przeprowadzone wszelkie przewidziane prawem badania, zapewniające bezpieczeństwo zwierząt, człowieka i środowiska. Pomimo tego jednak od czasu do czasu zdarzają się zarówno przypadki zatruc leczonych zwierząt, alarmujących przekroczeń poziomów limitowanych pozostałości leków lub wykrycia substancji niedozwolonych w żywności pochodzenia zwierzęcego, czy też bulwersujące zazwyczaj opinię społeczną przedostawanie się produktów leczniczych do środowiska. Przyczyny tego rodzaju okoliczności są złożone. Często niepowodzenia związane z leczeniem zwierząt wiążą się z zaniedbaniami i błędami popełnianymi przez człowieka. Czasami wynikają z tego, że obowiązkowe badania przedrejestracyjne wykonywane są w warunkach laboratoryjnych lub terenowych na zwierzętach zdrowych, natomiast stosowanie leków odbywa się u zwierząt chorych, często objętych procesem zapalnym, infekcją bakteryjną czy pasożytniczą, zwierzęta o upośledzonej kondycji, rozchwianym profilu immunologicznym itp. Bezpośredni kontakt z weterynaryjnym produktem leczniczym lub jego składnikami przed podaniem leku zwierzętom – podczas ich przechowywania i podawania oraz na skutek bezpośredniego kontaktu z leczonym zwierzęciem jest również okazją do wystąpienia nieprzewidywalnych działań niepożądanych u ludzi. Są na nie narażeni użytkownicy leków: lekarze, hodowcy rolnicy, opiekunowie zwierząt, właściciele zwierząt towarzyszących, osoby żyjące w tych samych pomieszczeniach co zwierzęta, pracownicy gabinetów pielęgnacyjnych i kosmetycznych dla zwierząt, osoby strzygące owce oraz pracownicy mieszalni pasz, przygotowujących pasze lecznicze.

Pewne zagrożenie dla człowieka stanowi również narażenie konsumentów żywności pochodzenia zwierzęcego na ewentualne pozostałości leków, stosowanych u zwierząt dostarczających żywności. Najczęstszą przyczyną pozostałości są błędy i nieprawidłowości w używaniu leków (pomyłki, przekroczenia dawki, nielegalne stosowanie), uwarunkowania biologiczne (wpływ wieku, płci, gatunku, kondycji zwierząt, stanu zdrowotnego, młeczności) a także oczywistych następstw stosowania leków (np. pozostałości w miejscu wstrzyknięcia).

### Piśmiennictwo:

- [1] Ustawa Prawo farmaceutyczne, Dz.U. Nr 126 z dnia 6 września 2001r., Directive 2001/82/EC, Directive 2004/28/EC.



## AKTYWNOŚĆ WYBRANYCH ENZYMÓW W TKANKACH SZCZURÓW NARAŻONYCH NA CHLOROPYRYFOS I ENROFLOKSACYNĘ

### ACTIVITY OF SELECTED ENZYMES IN RAT TISSUES EXPOSED TO CHLORPYRIFOS AND ENROFLOXACIN

Dariusz Barski, Anna Spodniewska, Aleksandra Giżejewska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii i Toksykologii, ul. M. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, e-mail: darbar@uwm.edu.pl

Wśród wielu związków chemicznych stanowiących potencjalne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt szczególne znaczenie mają substancje o dużej aktywności biologicznej, takie jak pestycydy i leki.

**Cel badań:** Określenie wpływu chloropiryfosu oraz enrofloksacyny, podawanych pojedynczo oraz łącznie, na aktywność acetylocholinoesterazy (AChE) we krwi i mózgu – jako biomarkera narażenia na insektycydy fosforoorganiczne oraz aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT) i asparaginianowej (AST) – jako efekt działania hepatotoksycznego analizowanych związków.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na szczurach (samcach) szczepu Wistar o wyjściowej masie ciała 160–170 g. Wydzielono 3 grupy doświadczalne zwierząt (I–III) oraz grupę kontrolną (K), po 30 sztuk w każdej. Szczurom z grupy I podawano dożołądkowo sondą enrofloksacyne (w postaci preparatu Enflocyna<sup>®</sup>SOL) w dawce 5 mg/kg m.c. przez 5 kolejnych dni, a z grupy II chloropiryfos w dawce 0,04 LD<sub>50</sub> (sondą dożołądkowo) przez 28 dni. Zwierzętom z grupy III aplikowano oba wymienione związki w sposób identyczny jak w grupie I i II. Grupa kontrolna szczurów otrzymywała paszę i wodę *ad libitum*. W wytypowanych okresach po intoksykacji (tj. po 3, 6, 24 godzinach oraz 3 i 7 dniach) zwierzętom w narkozie halotanowej pobierano krew z serca do badań biochemicznych, a po dekapitacji i przeprowadzeniu sekcji – odpowiednie narządy do badań.

We krwi i mózgu oznaczano aktywność acetylocholinoesterazy (AChE) metodą Y.M. Ruckebush, a w surowicy aktywność aminotransferaz alaninowej (ALT) i asparaginianowej (AST) metodą kinetyczną, wykorzystując zestawy odczynników ALT-Aminotransferaza Alaninowa oraz AST-Aminotransferaza Asparaginianowa firmy Pointe Scientific.

**Wyniki i omówienie:** Użyte w eksperymencie związki, tj. enrofloksacyna (gr. I) i chloropiryfos (gr. II) w zastosowanych dawkach powodowały obniżenie aktywności acetylocholinoesterazy (AChE) zarówno we krwi, jak i mózgu, które utrzymywało się przez cały okres trwania doświadczenia. Proces ten był zdecydowanie bardziej widoczny po podaniu chloropiryfosu. Maksymalne obniżenie aktywności tego enzymu w stosunku do kontroli wystąpiło po 3 godzinie i wynosiło 45,3% we krwi oraz 36,8% w mózgu. W intoksykacji mieszanej chloropiryfosem i enrofloksacyną (gr. III) odnotowano podobną tendencję zmian. Obserwowano jednak wolniejszą reaktywację AChE.

Enrofloksacyna w aplikowanej dawce powodowała wzrost aktywności aminotransferazy alaninowej (ALT) i asparaginianowej (AST) w surowicy, szczególnie w początkowym okresie badań, tj. do 24 godziny. Najwyższy wzrost aktywności ALT (23,7%) w stosunku do grupy kontrolnej odnotowano po 3 godzinie, natomiast AST po 6 godzinie (22,6%). W grupie szczurów intoksykowanych chloropiryfosem aktywność ALT i AST była podwyższona w stosunku do kontroli przez cały okres trwania eksperymentu (tj. do 7. dnia włącznie). Największy wzrost wystąpił po 6 godzinie i wynosił on w przypadku ALT – 41,3%, a AST – 31,4%. W grupie III zwierząt, które otrzymywały zarówno chloropiryfos, jak i enrofloksacyne, zmiany w aktywności analizowanych enzymów były podobne do stwierdzanych w grupie II.

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że zmiany w aktywności badanych enzymów były szczególnie widoczne u szczurów narażonych wyłącznie na chloropiryfos. W grupie zwierząt o mieszanej intoksykacji profil zmian był podobny, lecz bardziej nasilony w przypadku AChE, a mniej w przypadku analizowanych enzymów wątrobowych.





## POTENCJALNE ŹRÓDŁA DIOKSYN W PASZACH

### POTENTIAL SOURCES OF DIOXINS IN FEED

**Joanna Cebulska, Magdalena Gembal, Paweł Małagocki, Beata Furga, Monika Baran, Małgorzata Warenik-Bany, Sebastian Maszewski, Szczepan Mikołajczyk, Jadwiga Piskorska-Pliszczyńska**

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Radiobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, asia.cebulska@piwet.pulawy.pl*

Bezpieczna żywność ma swój początek w zdrowych i bezpiecznych surowcach użytych do jej produkcji. Konsumpcja przez człowieka żywności pochodzenia zwierzęcego sprawia, że kontrola pasz, którymi są skarmiane zwierzęta, jest istotnym sposobem zabezpieczenia zdrowia ludzi, ze względu na występowanie zjawiska bioakumulacji toksycznych substancji w tkankach zwierząt. Podczas krajowej urzędowej kontroli pasz prowadzone są badania zawartości toksycznych polichlorowanych dibenzo-*p*-dioksyn (PCDD), polichlorowanych dibenzofuranów (PCDF) i dioksynopodobnych polichlorowanych bifenyli (dl-PCB) [1]. Ze względu na ich toksyczność, bioakumulację i biomagnifikację w łańcuchach żywnościowych obligatoryjne kontrole pasz prowadzone są we wszystkich krajach Unii Europejskiej [2, 3].

Celem prowadzonych krajowych monitoringów paszowych są kontrola jakości pasz oraz wyselekcjonowanie rodzajów materiałów paszowych mogących stanowić potencjalne źródło dioksyn w karmie dla zwierząt.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiły próbki pasz pobierane przez Inspekcję Weterynaryjną podczas krajowych monitoringów w latach 2004–2011. Próbki wstępnie analizowano biologiczną metodą przesiewową, przeznaczając do badań potwierdzających tylko te, w których stwierdzono stężenia powyżej 75% dopuszczalnego limitu dla danej kategorii paszowej. Zawartość dioksyn potwierdzano jedyną metodą przeznaczoną do tego celu, tj. chromatografią gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (HRGC-HRMS).

**Wyniki i omówienie:** W latach 2004–2011 badaniom poddano łącznie 1344 próbki pasz i materiałów paszowych, z czego w 1190 uznano za zgodne z wymaganiami. Zawartość PCDD i PCDF oraz sumy PCDD, PCDF i dl-PCB nie przekraczały dopuszczalnych limitów. Pozostałe (154 próbki) analizowano metodą HRGC-HRMS i potwierdzono przekroczenie dopuszczalnych limitów w 42 próbkach. Matryce, w których odnotowano przekroczenia, to: mączki rybne (34 próbki), mieszanki paszowe (5 próbek), materiały paszowe pochodzenia roślinnego (2 próbki) oraz oleje roślinne (1 próbka). Badania przeprowadzone na przestrzeni 8 lat pozwalają stwierdzić, iż głównym źródłem dioksyn w karmie dla zwierząt hodowlanych są mączki rybne oraz mieszanki paszowe, do produkcji których użyto składników rybnych. Analiza profili kongenerów PCDD, PCDF i dl-PCB pokazuje podobieństwo do profili stwierdzanych w rybach bałtyckich (szprot, śledź), które można uważać za źródło pochodzenia dioksyn [4]. Również nieprawidłowa obróbka termiczna materiałów paszowych (suszenie) może stanowić źródło dioksyn podobnie jak dodatek niektórych tłuszczów paszowych. Kolejne zaostrenie przepisów prawnych dotyczących zawartości dioksyn, metod ich wykrywania oraz nałożenie na producentów materiałów paszowych obowiązku kontroli swoich wyrobów świadczy o randze problemu (5–7).

#### Piśmiennictwo:

- [1] [http://wetgiw.gov.pl/index.php?action=art&a\\_id=4547](http://wetgiw.gov.pl/index.php?action=art&a_id=4547)
- [2] Rozporządzenie (WE) nr 882/2004 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 29 kwietnia 2004 r.
- [3] Piskorska-Pliszczyńska J., 2011. Dioksyny – powracający problem, *Pasze Przemysłowe*, 20, 19–26.
- [4] Piskorska-Pliszczyńska J., Maszewski S., Mikołajczyk S., Warenik-Bany M., Góraj Ł., 2011. Rodzaje i stężenia kongenerów dioksyn, furanów i dl-PCB w krajowych materiałach paszowych, *Pasze Przemysłowe*, 20, 27–33.
- [5] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 252/2012 z dnia 21 marca 2012 r.
- [6] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 277/2012 z dnia 28 marca 2012 r.
- [7] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 225/2012 z dnia 15 marca 2012 r.

**POŚREDNIA EWALUACJA ZANIECZYSZCZENIA RTĘCIĄ EKOSYSTEMU RZEKI BUG****INDIRECT EVALUATION OF MERCURY POLLUTION OF THE BUG RIVER ECOSYSTEM****Agnieszka Chałabis-Mazurek, Grażyna Wałkuska**

*Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, Zakład Toksykologii i Ochrony Środowiska, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: agnieszka.mazurek@up.lublin.pl*

Rtęć ze względu na powszechność występowania oraz dużą aktywność geochemiczną i biochemiczną należy do najbardziej niebezpiecznych, globalnych zanieczyszczeń środowiska. Charakteryzuje się najwyższym współczynnikiem kumulacji, co powoduje, że łatwo może być wprowadzana do łańcucha troficznego, stanowiąc istotne zagrożenie toksykologiczne dla zdrowia ludzi i zwierząt.

**Cel badań:** Pośrednia ewaluacja zanieczyszczenia rtęcią środowiska wodnego rzeki Bug na podstawie analizy wody, osadów i roślin wodnych oraz materiału pochodzącego od gatunków ryb należących do różnych gildii pokarmowych – bentosożerców (leszcz, jelec) i rybożerców (szczupak, okoń).

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki wody, osadów dennych oraz roślinności wodnej pobrane ze strefy brzegowej w 4 miejscach opróbowania rzeki Bug. W tych samych miejscach przeprowadzono odłów ryb. Oznaczenie zawartości rtęci w pozyskanych próbach przeprowadzono z wykorzystaniem analizatora rtęci MA-2, firmy NIC.

**Wyniki i omówienie:** Średnia zawartość rtęci w badanych próbkach wody wynosiła 0,001 mg/L i odpowiadała wartości granicznej tego pierwiastka ustalonej dla II i III klasy czystości wód powierzchniowych. Zawartość rtęci w osadach dennych mieściła się w zakresie od 0,001 do 0,02 mg/kg suchej masy i była zależna od struktury analizowanego osadu. Najniższą zawartością rtęci charakteryzowały się osady z przewagą frakcji krzemianowej, o małej pojemności sorpcyjnej, zaś najwyższą wykazujące znaczny udział frakcji organicznej, zdolnej do akumulacji zanieczyszczeń metalicznych. Średnie stężenia tego pierwiastka w analizowanych osadach nie przekraczały wartości 0.2 ppm, którą to wartość przyjęto jako tło geochemiczne rtęci w osadach dennych rzek.

Stężenia rtęci w analizowanych roślinach wodnych mieściły się w zakresie od 0,0004 do 0,032 mg/kg s.m. i były zależne od gatunku rośliny oraz zawartości tego pierwiastka w osadach dennych.

Średnia zawartość rtęci w próbkach mięśni ryb bentosożernych wynosiła 0,113 mg/kg świeżej masy i była niższa w porównaniu ze średnią wartością uzyskaną podczas analizy rybożerców (0,183 mg/kg świeżej masy). Średnia zawartość rtęci w skrzelach i wątrobie ryb bentosożernych była istotnie niższa (odpowiednio 0,024 i 0,03 mg/kg świeżej masy) w porównaniu ze średnimi stężeniami tego pierwiastka stwierdzonymi w analizowanych narządach ryb drapieżnych (odpowiednio 0,061 i 0,047 mg/kg świeżej masy). We wszystkich przebadanych próbkach mięśni ryb zarówno bentosożernych, jak i drapieżnych zawartość rtęci kształtowała się poniżej dopuszczalnej wartości określonej w rozporządzeniu Komisji WE 1881/2006 z dnia 19.12.2006 r. Uzyskane wartości stężeń rtęci we wszystkich ogniwach łańcucha troficznego ekosystemu rzeki Bug można określić jako niskie, niestanowiące zagrożenia toksykologicznego dla zdrowia ludzi i zwierząt. Należy jednak zaznaczyć, że najwyższe zawartości tego pierwiastka stwierdzono w narządach ryb drapieżnych, będących na szczycie piramidy troficznej ekosystemu wodnego, co wskazuje na postępujący proces biomagnifikacji rtęci zachodzący wzdłuż łańcucha pokarmowego w tym zbiorniku.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Ward D.M., Nislow K.H., Folt C.L., 2010. Bioaccumulation syndrome: identifying factors that make some stream food webs prone to elevated mercury bioaccumulation, *Ann N.Y. Acad. Sci.* 1195, 62–83.





## WPŁYW POCHODNYCH IZOKSAZOLOWYCH NA PROLIFERACJĘ MYSICH LINII USTALONYCH MAKROFAGÓW I LIMFOBLASTÓW

### INFLUENCE OF A CLASS OF ISOXAZOLE DERIVATIVES ON THE PROLIFERATION OF MURINE MACROPHAGE AND LYMPHOBLASTIC CELL LINES

Angelika Drynda<sup>1</sup>, Aleksandra Pawlak<sup>1</sup>, Marcin Mączyński<sup>2</sup>, Stanisław Ryng<sup>2</sup>,  
Bożena Obmińska-Mrukowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biochemii,  
Farmakologii i Toksykologii, Zakład Farmakologii i Toksykologii, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław

<sup>2</sup>Akademia Medyczna we Wrocławiu, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Chemii Organicznej,  
ul. Grodzka 9, 50-137 Wrocław

**Wstęp:** Substancje zawierające w swej strukturze pierścień izoksazolowy wykazują szereg aktywności biologicznych, dzięki czemu wiele z nich znalazło zastosowanie w leczeniu. Najbardziej charakterystyczne dla tych związków jest działanie modulujące funkcje układu immunologicznego.

**Cel pracy:** Określenie wpływu pochodnych izoksazolowych oznaczonych symbolami H, 01K, 04K, 06K, 07K i 08K otrzymanych w Zakładzie Chemii Organicznej Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu na proliferację mysich linii ustalonych makrofagów (J774.E) i limfoblastów (D10.G4.1). Jak dotąd, substancje te poddano badaniom określającym ich wpływ na pierwotną odpowiedź humoralną myszy immunizowanych erytrocytami owcy (SRBC) oraz na proliferację stymulowanych fitohemaglutyniną (PHA) ludzkich jednojądrzastych komórek krwi obwodowej. Niektóre związki wykazały silne działanie immunosupresyjne już w niskich dawkach, co sugeruje, że charakteryzują się one dużą biodostępnością oraz powinowactwem do receptorów zewnątrz- lub wewnątrzkomórkowych [1, 2].

**Materiał i metody:** Komórki linii J774.E i D10.G4.1 poddano 72-godzinnej ekspozycji na badane związki w stężeniach od 0,01 do 200 µg/ml. Następnie przeprowadzono test oceniający aktywność mitochondrialnej dehydrogenazy bursztynianowej, która przekształca bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2-ilo)-2,5-difenylo-tetrazolowy (MTT) w nierozpuszczalny formazan. Ilość formazanu jest proporcjonalna do liczby żywych komórek. Na podstawie wyznaczonej kolorymetrycznie gęstości optycznej próbek określono wpływ analizowanych substancji na proliferację komórek badanych linii.

**Wyniki i omówienie:** Substancja wyjściowa H oraz 07K i 08K wykazywały niewielki wpływ na proliferację lub działały pobudzająco na linię J774.E niezależnie od zastosowanego stężenia, podczas gdy związki 01K, 04K i 06K hamowały proliferację tych komórek. Siła działania związku 04K zmieniała się wraz z zastosowanym stężeniem. Proliferacja komórek linii D10.G4.1 pobudzana była przez substancje H, 01K i 04K, przy czym aktywność ta malała przy najwyższych stężeniach. Hamowanie aktywności proliferacyjnej zachodziło natomiast pod wpływem związków: 06K – w stężeniach wyższych od 5 µg/ml oraz 07K – w całym zakresie stężeń. Związek 08K nie wpływał znacząco na proliferację. Najsilniejsze działanie hamujące proliferację obydwu badanych linii wykazywał związek oznaczony symbolem 06K. Analizowane substancje w różnym stopniu oddziaływały na proliferację badanych komórek, co wskazuje na ich potencjalne właściwości immunomodulujące i predysponuje je do dalszych badań aktywności *in vitro* i *in vivo*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Mączyński M., Zimecki M., Taraszkiewicz M., Ryng S., 2008. Synthesis, immunological activity and computational study of 5-amino-3-methyl-4-isoxazolecarboxylic acid semicarbazides and thiosemicarbazides. *Acta Pol. Pharm. Drug Res.*, 65, 543–549.
- [2] Mączyński M., Zimecki M., Ryng S., 2008. A new class of isoxazole derivatives: the M 1-9 series of compounds with immunotropic activity. *Acta Pol. Pharm. Drug Res.*, 65, 241–244.



## MONITOROWANA TERAPIA ZAPALEŃ GRUCZOŁU MLEKOWEGO (*MASTITIS*) KRÓW ANTYBIOTYKAMI ORAZ PROPOLISEM PROWADZONA W OKRESIE LAKTACJI I INWOLUCJI

### A MONITORED THERAPY OF BOVINE MASTITIS DURING LACTATION AND INVOLUTION BY USE OF ANTIBIOTICS AND PROPOLIS WERE CARRIED OUT

Przemysław Dudko<sup>1</sup>, Bogdan Kędzia<sup>2</sup>, Aleksander Jędrus<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy, Katedra Weterynarii, ul. Wojska Polskiego 52, 60-625 Poznań, e-mail: pdudko@wp.pl

<sup>2</sup>Instytut Roślin i Przetworów Zielarskich, ul. Libelta 27, 61-707 Poznań

<sup>3</sup>Uniwersytet Przyrodniczy, Katedra Mechanizacji Produkcji Zwierzęcej, ul. Wojska Polskiego 52, 60-625 Poznań

Zebrano dane z ponad dwudziestoletnich obserwacji nad skutecznością terapii mastitis krów w laktacji i inwolucji, własnym lekiem na bazie propolisu w porównaniu z celowaną antybiotykoterapią.

**Cel pracy:** Porównanie efektów monitorowanej terapii mastitis krów w laktacji i zasuszeniu.

**Materiał i metody:** Do I etapu wybierano krowy z 3 stad, ale profilaktyczne metody zaradcze PZM zrealizowano tylko w 1 z nich. Wymiona zwierząt badano raz w miesiącu, a wykryte przypadki mastitis leczono w okresie laktacji lub inwolucji. Efektywność terapii KPM oceniono na 75 krowach w laktacji i 324 zasuszonych, u których na 2 tygodnie przed inwolucją stwierdzono: zmiany organoleptyczne mleka lub wykryto zarazki w mleku. W każdym stadzie dobrano zbliżoną liczbę podobnych KPM, które poddano antybiotykoterapii (grupa kontrolna) lub kuracji emulsją wodną EEP (doświadczalna). Leki Dry-cow podawano zasuszonym krowom tylko do zakażonych płatów (wariant minimum), dobierając antybiotyki (grupa kontrolna) jak w laktacji lub żel dowymieniowy z propolisem (doświadczalne). Zgodnie z tymi kryteriami powtórzono w II etapie monitorowaną terapię KPM w laktacji. Różnica między I a II etapem polegała na tym, iż dawniej podstawą cytologicznej oceny mleka był TOK, z którego wyników wyliczano IDR. Obecnie przeprowadzano elektroniczny pomiar LKS aparatem Fossomatic firmy Foss-Electric.

**Wyniki i omówienie:** Zauważono wyraźne różnice między I (przed 1990) a II etapem badań (aktualnie). Przed 1990 r. istniały stada krów, których przewody strzykowe kolonizował *C. bovis* i mogło to ich gruczoły mlekowe chronić przed super-infekcją *major pathogens*. Obecnie dynamika zakażeń eksponowała raczej znamienny wzrost odsetka nowych zakażeń zarazkami środowiskowymi pod koniec inwolucji wymion i przy porodzie, co oczywiście pogarszało skuteczność obu kuracji. Zarówno antybiotykami, jak i propolisem trudniej było leczyć w II etap badań (aktualnie), ale w obu tych okresach skuteczniejsze okazały się kuracje propolisem. Proponuje się „optymalny” wariant terapii dry-cow (aplikację żelu z propolisem do wszystkich płatów, a po badaniu wydzieliny można by podać właściwy antybiotyk, tylko do zakażonych ćwiartek (wariant minimum).



## OPTIMALIZACJA METODY OZNACZANIA MELOKSYKAMU W OSOCZU BYDŁA METODĄ WYSOKO SPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

### METHOD OPTIMIZATION FOR THE DETERMINATION OF MELOXICAM IN BOVINE PLASMA USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Agnieszka Jasiocka, Hubert Ziólkowski, Włodzimierz Markiewicz, Emilia Anna Koziół,  
Jerzy Jan Jaroszewski

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii i Toksykologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: aga.jasiocka@gmail.com

Meloksykam jest niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym (NLPZ) z grupy oksykamów, stosowanym zarówno w medycynie ludzkiej, jak i medycynie weterynaryjnej. Mechanizm działania tego leku opiera się na blokowaniu aktywności cyklooksygenazy 2, czego następstwem jest hamowanie syntezy prostaglandyny E<sub>2</sub>, a w efekcie działanie przeciwzapalne, przeciwbólowe oraz przeciwgorączkowe. Meloksykam jest dostępny w preparatach zarejestrowanych do stosowania u psa, bydła, świni i konia.

**Cel badań:** Ustalenie optymalnej metody oznaczania meloksykamu w osoczu bydła z zastosowaniem wysoko sprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Uzyskane wyniki mają ważne znaczenie aplikacyjne, gdyż opierając się na dostępnej literaturze, można stwierdzić, iż brak jest podobnego opracowania.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło osocze bydła pozyskane z krwi pobranej od klinicznie zdrowych zwierząt. Analizę przeprowadzono z użyciem chromatografu cieczowego Agilent 1100 Series z detektorem DAD ( $\lambda = 340$  nm) oraz kolumn Gemini C18 (3  $\mu$ m, 3,0 x 150 mm, Phenomenex), XBridge Shield RP18 (3,5  $\mu$ m, 3,0 x 150 mm, Waters) Atlantis T3 (3  $\mu$ m, 3,0 x 150 mm, Waters) oraz XTerra RP 18 (3,5  $\mu$ m, 4,6 x 150 mm, Waters). Zastosowano przepływ gradientowy z zastosowaniem faz ruchomych A (20% 0,01 M dwufosforanu potasu oraz 80% acetonitrylu) oraz B (50% 0,01 M dwufosforanu potasu oraz 50% acetonitrylu). Jako standard wewnętrzny zastosowano indapamid. W celu ekstrakcji meloksykamu dodano do czystego osocza standard leku oraz standard wewnętrzny; próbki denaturowano z zastosowaniem mieszaniny denaturującej (acetonitryl:amoniak, 96:4), a następnie poddano ekstrakcji ciecz-ciecz (LLE) z użyciem octanu etylu. Warstwę organiczną odparowano, a badane próbki zrekonstruowano fazą A.

**Wnioski i dyskusja:** Otrzymane wyniki wskazują, że najkorzystniejszy rozdział chromatograficzny uzyskano, stosując kolumnę XTerra RP 18 (3,5  $\mu$ m, 4,6 x 150 mm), pracującą w temperaturze 35°C, przy przepływie eluentu 1 ml/min. Czułość metody wynosiła 0,1  $\mu$ g/ml. Zastosowany w metodzie octan etylu okazał się skutecznym ekstatentem, a stopień odzysku leku wynosił 80%. Ustalono ponadto, że optymalny czas analizy wynosił 15 min, a najkorzystniejsza objętość nastrzyku stanowiła 50  $\mu$ l.

Przedstawiona optymalizacja metody oznaczania meloksykamu umożliwia uzyskanie wiarygodnych wyników w zakresie oceny farmakokinetyki tego leku u bydła.



## OPTIMALIZACJA METODY OZNACZANIA FLUMECHINY W OSOCZU KURCZĄT BROJLERÓW METODĄ WYSOKO SPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

### METHOD OPTIMIZATION FOR THE DETERMINATION OF FLUMEQUINE IN BROILERS PLASMA USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Jasiecka Agnieszka, Ziółkowski Hubert, Ziółkowska Aleksandra, Jaroszewski Jerzy Jan

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii i Toksykologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: aga.jasiecka@gmail.com

Flumechina jest syntetycznym chemioterapeutyką z grupy chinolonów. Lek ten, hamując gyrazę bakteryjną, wykazuje działanie bakteriobójcze na drobnoustroje Gram-ujemne, w tym szczepy *E. coli*, *Salmonella sp.*, *Pasteurella sp.*, *Haemophilus sp.*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.* oraz Gram-dodatnie gronkowce. Flumechina dostępna jest w preparatach zarejestrowanych do stosowania u drobiu, cieląt, prosiąt, kociąt oraz koźląt.

W związku z niewielką liczbą danych dotyczących opracowania metodyki oznaczania flumechiny w surowicy kurcząt brojlerów podjęto badania, których celem było zoptymalizowanie metodyki oznaczania tego chinolonu.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło osocze kurcząt brojlerów pozyskane z krwi pobranej od klinicznie zdrowych zwierząt. Analizę przeprowadzono z użyciem chromatografu cieczonego Agilent 1100 Series z detektorem FLD ( $\lambda_{ex.} = 233 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em.} = 338 \text{ nm}$ ) oraz kolumną Gemini C18 (3  $\mu\text{m}$ , 3,0 x 150 mm, Phenomenex), pracującą w temperaturze 35°C. Zastosowano izokratyczny przepływ eluentu 0,25 ml/min. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina metanolu oraz 0,01M dwufosforanu potasu (65:35). Jako standard wewnętrzny testowano kwas oksolinowy i kwas nalidyksowy. Próbkę poddawano denaturacji z zastosowaniem mieszaniny denaturującej (acetornitryl:amoniak, 96:4) bez modyfikacji środowiska oraz w środowisku kwaśnym. Flumechinę ekstachowano z osocza z użyciem octanu etylu; warstwę organiczną odparowano, a badane próbki zrekonstruowano fazą ruchomą.

**Wnioski i dyskusja:** Otrzymane wyniki wskazują, że największy odzysk leku (85%) uzyskano z zastosowaniem denaturacji prób w środowisku kwaśnym, dodając kwas mrówkowy. Czulość metody wynosiła 0,1  $\mu\text{g/ml}$ . Skutecznym standardem wewnętrznym użytym w metodzie okazał się kwas oksolinowy. Ustalono również, że optymalny czas analizy wynosił 10 min, a najkorzystniejsza objętość nasytyki stanowiła 2  $\mu\text{l}$ .

Przedstawiona optymalizacja metody oznaczania flumechiny umożliwiła uzyskanie wiarygodnych wyników badań właściwości farmakokinetycznych tego chinolonu u kurcząt brojlerów.



## DZIAŁANIE EKSTRAKTU ETANOLOWEGO Z PROPOLISU (EEP) NA DROBNOUSTROJE WYZIOLOWANE OD LUDZI I ZWIERZĄT

## THE ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT FROM PROPOLIS (EEP) ON MICROORGANISMS ISOLATED FROM HUMAN AND ANIMALS

Bogdan Kędzia<sup>1</sup>, Przemysław Dudko<sup>2</sup>, Elżbieta Hołderna-Kędzia<sup>1</sup>, Anna Kędzia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, w Poznaniu, Zakład Farmakologii i Biologii Doświadczalnej, ul. Libelta 27, 61-707 Poznań, e-mail: bogdan.kedzia@iwnirz.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Weterynarii Rolniczej, ul. Wojska Polskiego 52, 60-625 Poznań, e-mail: pdudko@wp.pl

<sup>3</sup>Gdański Uniwersytet Medyczny, Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, ul. Do Studzienki 38, 88-227 Gdańsk, e-mail: zmju@amg.gda.pl

Liczne badania wskazują, że wrażliwość bakterii, grzybów i pierwotniaków na ekstrakt etanolowy z propolisu (EEP) znacznie się różni. Dotyczy to zarówno poszczególnych szczepów i gatunków, jak i całych grup drobnoustrojów.

**Cel badań:** Analiza przeciwdrobnoustrojowego działania EEP oraz ocena wrażliwości poszczególnych drobnoustrojów wyizolowanych od ludzi i zwierząt na ten produkt.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły bakterie tlenowe (ziarniaki Gram-dodatnie i Gram-ujemne, maczugowce, prątki, pałeczki Gram-ujemne fermentujące i niefermentujące), bakterie beztlenowe (ziarniaki Gram-dodatnie i Gram-ujemne, pałeczki Gram-ujemne), grzyby (drożdżoidalne i pleśniowe) oraz pierwotniaki. Wrażliwość badanych drobnoustrojów na EEP prowadzono metodą rozcieńczeń seryjnych w podłożu płynnym oraz metodą krążków bibułowych.

**Wyniki badań i wnioski:** Przeprowadzone badania wskazują, że na EEP najbardziej wrażliwe były bakterie beztlenowe (MIC w granicach 0,01–3 mg/ml). Średnią aktywnością przeciwdrobnoustrojową wobec EEP odznaczały się ziarniaki Gram-dodatnie i Gram-ujemne, maczugowce i prątki (MIC w granicach 0,075–10 mg/ml) oraz pierwotniaki (MIC w granicach 0,05–9 mg/ml). Najmniejszą wrażliwością na EEP charakteryzowały się pałeczki Gram-ujemne fermentujące i niefermentujące (MIC w granicach 4–20 mg/ml) oraz grzyby drożdżoidalne i pleśniowe (MIC w granicach 5–>25 mg/ml). Otrzymane wyniki mogą stanowić podstawę do opracowania preparatów z EEP skutecznych w terapii zakażeń drobnoustrojami u ludzi i zwierząt.

### Piśmiennictwo:

- [1] Dokumentacja tematu statutowego 3/73. Inst Rośl Przetw Ziel, Poznań.
- [2] Dudko P., 1986. Badania nad czynnikami etiologicznymi, leczeniem i zwalczaniem zapaleń gruczołu mlekowego u krów. Rozprawa doktorska, Akademia Rolnicza, Lublin.
- [3] Kędzia B., 1974. Przeciwdrobnoustrojowe działanie etanolowego ekstraktu z propolisu (EEP).
- [4] Kędzia A., Kałowski M., 1988. Ocena skuteczności działania wyciągu etanolowego z propolisu na bakterie bezwzględnie beztlenowe jamy ustnej. Czas Stomat., 41, 757–763.





## DIAGNOSTYKA SEKCYJNA I LABORATORYJNA ZATRUCI U PSÓW

## POST-MORTEM AND LABORATORY DIAGNOSTICS OF POISONINGS IN DOGS

Ewa Kucharczak<sup>1</sup>, Stanisław Dzimira<sup>2</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Biochemii, Farmakologii i Toksykologii, <sup>2</sup>Katedra Patologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: ewa.kucharczak@up.wroc.pl

Zatrucia zwierząt towarzyszących stanowią około 80% wszystkich przypadków zatruc u zwierząt. Są one przedmiotem zainteresowania zarówno nauk klinicznych, jak i tych, które zajmują się pośmiertną diagnostyką laboratoryjną i sekcyjną. Ponieważ znaczna liczba zatruc u psów kończy się zejściem śmiertelnym, to z punktu widzenia diagnostyki badania anatomo- i histopatologiczne, oprócz badań laboratoryjnych identyfikujących rodzaj substancji toksycznej, są bardzo istotne do postawienia diagnozy.

Przeprowadzone badania miały na celu, opierając się na analizie chemicznej i patologicznej, określenie głównej przyczyny śmiertelnych zatruc u psów. Wyniki mogą być wskazówką i pomocą dla lekarzy klinicystów do wdrożenia odpowiedniego postępowania terapeutycznego w przypadku ostrego zatrucia tego gatunku zwierząt.

**Materiał i metody:** Analizie poddano przypadki nagłych padnięć u psów w latach 2008–2011, zdiagnozowane jako zatrucia na podstawie wywiadu toksykologicznego oraz zmian anatomopatologicznych. Materiał sekcyjny pobrany w Katedrze Patologii stanowiły: treść przewodu pokarmowego, ściana żołądka oraz wątroba. Na podstawie wyników sekcji i zmian anatomopatologicznych wykonano badania chemiczne, o charakterze jakościowym, na obecność najbardziej prawdopodobnych związków toksycznych powodujących nagłe padnięcie zwierząt. W treści żołądka oznaczano zawartość fosforu cynku, cyjanków oraz chloru, siarki, azotu związanych organicznie, pierwiastków wchodzących w skład wielu pestycydów stosowanych w rolnictwie (karbaminianów, związków fosforoorganicznych, preparatów chwastobójczych) oraz środków dezynfekcyjnych, używanych w higienie ludzi. Homogenizat wątroby poddawano badaniom chromatograficznym (chromatografia cienkowarstwowa) w kierunku obecności hydroksykumaryny i pochodnych indandionu, środków antykoagulacyjnych, używanych powszechnie do tępienia gryzoni.

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone badania wykazały, iż na przestrzeni czterech lat liczba analizowanych przypadków zatruc wyraźnie wzrosła, w 2008 r. było to 10%, w 2009 – 17%, w 2010 – 20%, a w 2011 r. już 51% z ogólnej liczby analiz przeprowadzonych w tych latach. Podczas gdy w roku 2008 główną przyczyną padnięcia psów były rodentycydy, to w roku 2009 – 72%, w 2010 – 50% i w 2011 – 60% stanowiły zatrucia pestycydami z grupy karbaminianów, związków fosforoorganicznych oraz preparatów chwastobójczych. Sporadycznie stwierdzono również pojedyncze przypadki zatruc u psów cyjankami (25% zdiagnozowanych w roku 2010) r., w żadnym przypadku nie wykazano, że przyczyną śmierci zwierząt mogło być zatrucie fosforem cynku, który stosowany jest jako preparat gryzoniobójczy. Tendencja taka zgodna jest z analizami zatruc u psów, przeprowadzanymi rutynowo w innych ośrodkach toksykologicznych [2]. Rodentycydy antykoagulacyjne są szeroko stosowaną grupą pestycydów, które na skutek przypadkowego kontaktu z nimi bądź świadomego użycia jako przynęty są powodem śmiertelnych zatruc u psów. Wprowadzone do masowego użycia oraz szeroko dostępne stały się ważnym problemem klinicznego i terapeutycznego postępowania, a wynika to przede wszystkim z mechanizmu ich toksycznego działania na układ krwiotwórczy [1]. Również, jak wynika z analizy, nie należy lekceważyć zatruc spowodowanych stosowaniem pestycydów zawierających w swoim składzie przede wszystkim azot związany organicznie.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Cambel A., Chapman M., 2001. Zatrucia u psów i kotów, Wydawnictwo „SIMA WLW”, Warszawa.
- [2] Wang Y., Kruzik P., Helsing A., Helsing I., Rausch W.D., 2007. Pesticide poisoning in domestic animals and livestock in Austria: A 6 years retrospective study. *Forensic Scien., Intern.*, 169, 157–160.





## TOKSYCZNY WPŁYW NISKIEGO STĘŻENIA FUNGICYDU – MANKOZEBU NA WĄTROBĘ KARPIA *CYPRINUS CARPIO* L.

## TOXIC EFFECT OF LOW CONCENTRATION OF FUNGICIDE – MANCOZEB IN THE LIVER OF CARP *CYPRINUS CARPIO* L.

Agnieszka Ludwikowska<sup>1</sup>, Hanna Lutnicka<sup>1</sup>, Anna Pecio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Katedra Hodowli Drobiu, Zwierząt Futerkowych i Zoohigieny,  
Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, e-mail: aga.ludwikowska@onet.eu

<sup>2</sup>Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii, Zakład Anatomii Porównawczej, ul. Gronostajowa 13

Stosowanie coraz większych ilości pestycydów w ochronie roślin związane jest z intensyfikacją rolnictwa. Nie pozostaje to bez wpływu na stan czystości wód śródlądowych, do których pestycydy dostają się ze spływami powierzchniowymi. Dużą grupę obecnie stosowanych środków ochrony roślin stanowią fungicydy. Sprzedaż ich w ostatnich latach wykazuje tendencję wzrostową (zestawienie danych sprzedaży za lata 2005–2009 MRiRW). Na ogół w wodach powierzchniowych wykrywa się śladowe ilości pestycydów, ale pomimo niskich ich stężeń, nie pozostają bez wpływu na organizm ryb. Oprócz zaburzeń podstawowych parametrów fizjologicznych, mogą przyczyniać się do powstawania zmian histopatologicznych w narządach wewnętrznych [1, 2, 3].

**Cel badań:** Analiza ultrastruktury komórek wątrobotrzustki karpia *Cyprinus carpio* L. poddanego ekspozycji na niskie stężenie wybranego fungicydu – mankozebu.

**Materiał i metody:** Doświadczenia przeprowadzono w warunkach akwaryjnych, na wiosennym narybku karpia o masie ciała 50 g. Ryby, po poprzedniej aklimatyzacji, poddano 14-dniowej ekspozycji na mankozeb, zastosowany w postaci czystej substancji aktywnej, w stężeniu 0,1 mg L<sup>-1</sup>, podany 3-krotnie w czasie doświadczenia. Materiał biologiczny pobrano po 3 i 14 dniach ekspozycji i po 30-dniowym okresie rekonwalescencji. Wycinki narządu przygotowano według standardowej dla mikroskopii elektronowej metodyki. Preparaty histologiczne oglądano w transmisyjnym mikroskopie elektronowym JEOL JEM-100 SX.

**Wyniki:** Po 3 dniach ekspozycji ryb na fungicyd w hepatocytach obserwowano wzrost ilości RER, występującej głównie w postaci długich fragmentów błon, a zwłaszcza w rejonie trzustkowym. W tym obszarze obserwowano również liczne ziarna zymogenu. Krótkie, pojedyncze fragmenty SER były także obecne w cytoplazmie. Mniej liczne, w porównaniu z kontrolą, były ziarna glikogenu. Po 14 dniach ekspozycji nastąpił dalszy wzrost ilości RER. W bezpośrednim sąsiedztwie naczynia krwionośnego cytoplazma była jasna elektronowo. W niezmienionej cytoplazmie ziarna glikogenu były bardzo liczne. Licznie reprezentowane były też mitochondria. Niektóre z nich miały prawidłową strukturę, niektóre były patologicznie zmienione. W tych ostatnich matriks była jasna elektronowo, z niewyraźnie zaznaczonymi grzebieniami, w innych była elektronowo gęsta. Niekiedy obserwowano też obrzmienie mitochondriów. Po okresie rekonwalescencji nastąpiło wyraźne zmniejszenie ilości RER i była ona rozfragmentowana. Stan mitochondriów był podobny do opisanego po okresie ekspozycji, jak również cytoplazma w otoczeniu naczynia krwionośnego była jasna elektronowo. W cytoplazmie hepatocytów obecne były pojedyncze krople tłuszczu.

Obecność niskiego stężenia fungicydu w wodzie wywołuje reakcję hepatocytów ryb, a 30-dniowy okres rekonwalescencji nie jest wystarczający dla pełnej regeneracji narządu.

### Piśmiennictwo:

- [1] Crestani M., Menezes C., Glusczak L., Miron D. dos Santos, Spanevello A., Gonçalves F.F., Zanella R., Loro V.L., 2007. Effect of clomazone herbicide on biochemical and histological aspects of silver catfish (*Rhamdia quelen*) and recovery pattern. *Chemosphere*, 67, 2305–2311.
- [2] Ferreira D., Costa da Motta A., Kreutz L.C., Toni C., Loro V.L., Barcellos L.J.G., 2010. Assessment of oxidative stress in *Rhamdia quelen* exposed to agrichemicals. *Chemosphere*, 79, 914–921.
- [3] Velmurugan B., Selvanayagam M., Cengiz E.I., Unlu E., 2007. Histopathology of lambda-cyhalothrin on tissues (gill, kidney, liver and intestine) of *Cirrhinus mirgala*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24, 286–291.



## WPŁYW OCHRATOKSYNY A ORAZ AFLATOKSYNY B2 NA PARAMETRY BIOCHEMICZNE KURCZĄT BROILERÓW

## INFLUENCE OF OCHRATOXIN A AND AFLATOXIN B2 ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BROILER CHICKENS

**Beata Łebkowska-Wieruszewska, Cezary Kowalski**

*Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Zakład Farmakologii, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych,  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin, buniasky@o2.pl*

Mykotoksyny to toksyczne, wtórne metabolity, niektórych gatunków grzybów strzępkowych, głównie należących do rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Zawartość mykotoksyn w paszach wywołuje przede wszystkim skutki ekonomiczne. Podstawą karmienia drobiu jest zboże z dodatkiem białka. Obydwa produkty są w sprzedaży na całym świecie, w związku z czym na rynku panuje presja w kierunku obniżania cen. Ta presja prowadzi po części do problemów związanych z jakością pasz, co skutkuje większą śmiertelnością i podatnością na choroby zwierząt oraz spadkiem wydajności pasz, przyrostów masy, zmniejszoną produkcją jaj. Powoduje to straty u producentów, a w wyniku tego także wzrost cen żywności.

Spośród wielu klas związków należących do grupy mykotoksyn tylko dla trzech udowodniono, iż mają właściwości rakotwórcze, a są to aflatoksyny i sterigmatocystyna wpływające na tworzenie się nowotworów wątroby oraz ochratoksyna A wywołująca nowotwory nerek.

Badanie mało na celu określenie wpływu podania mykotoksyn (ochratoksyny A i aflatoksyny B1) na wybrane parametry funkcji nerek, wątroby u kurcząt rzeźnych. Badania przeprowadzono na kurczętach rzeźnych 40 szt. obojga płci (20 samców i 20 samic), w tym grupa kontrolna. Zwierzęta podzielono na 4 grupy po 10 szt. – 1 grupę której podano ochratoksynę A; 2 grupę w której stosowano aflatoksynę B1; 3 grupę której podano etanol (rozpuszczalnik dla mykotoksyn) oraz grupę kontrolną (K). Dawkę (0,5 mg/kg m.c dla każdej z badanych mykotoksyn) ustaloną na podstawie LD50 i NOAEL dla drobiu podano *per os*. Doświadczenie prowadzono przez 10 kolejnych dni, po czym ptaki zostały poddane ubojowi, a następnie pobrano próbki krwi do heparynizowanych probówek. Uzyskana po wirowaniu plazma została wykorzystana do oznaczenia parametrów biochemicznych funkcji wątroby oraz nerek. Badano poniższe parametry biochemiczne: ALT, AST, ALKP, CREA i UREA. W trakcie doświadczenia obserwowano również przyrosty/spadki wagowe oraz spożycie paszy i wody.



## OKREŚLENIE CYTOTOKSYCZNOŚCI KWASU KYNURENINOWEGO

## DETERMINATION OF KYNURENIC ACID CYTOTOXICITY

Joanna Małaczewska<sup>1</sup>, Andrzej Krzysztof Siwicki<sup>1</sup>, Roman Wójcik<sup>1</sup>, Waldemar Turski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: j.malaczewska7@wp.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej, ul. Jaczewskiego 8, 20-090 Lublin

**Wstęp:** Kwas kynureninowy (KYNA), metabolit tryptofanu, jest endogennym antagonistą jonotropowych receptorów glutaminergicznych i  $\alpha$ -7 cholinergicznych receptorów nikotynowych w układzie nerwowym oraz aktywatorem receptorów GPR35, obecnych na powierzchni różnych populacji komórek układu odpornościowego. Wykazano, iż aktywność biologiczna KYNA ściśle uzależniona jest od jego stężenia. Podczas gdy stężenia fizjologiczne (10–150 nM) nie wywierają istotnego wpływu na receptory tkanki nerwowej, intensywnie do tej pory badane stężenia mikromolowe działają neuroprotekcynie, zaś stężenia nieco przewyższające fizjologiczne (200–250 nM) wykazują działanie pobudzające, co pozwala uznać kwas kynureninowy za neuromodulator. Również wpływ KYNA na komórki immunokompetentne jest złożony. Stężenia mikromolowe, notowane w tkankach w czasie procesów zapalnych, wykazują dwuetapowe działanie – wczesne prozapalne i późne przeciwzapalne.

**Cel pracy:** Ocena cytotoksyczności szerokiego zakresu stężeń KYNA (0,0625–10 mM), obejmującego stężenia potencjalnie terapeutyczne, w stosunku do różnych typów komórek.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na dwóch ciągłych liniach komórkowych – NIH/3T3 (fibroblasty mysie) i GMK (nerka małpy zielonej) oraz pierwotnej hodowli komórek zarodka kurzego (CECC). Komórki hodowli inkubowano przez okres 24 godzin ze wzrastającymi stężeniami kwasu kynureninowego (Sigma-Aldrich), następnie określając ich żywotność w spektrofotometrycznych testach: redukcji MTT (ocena aktywności mitochondriów), NRU (pochłanianie czerwieni obojętnej – ocena integralności błon lizosomalnych) i LDH (uwalnianie dehydrogenazy mleczanowej – ocena integralności błon komórkowych).

**Wyniki i omówienie:** Wysokie stężenia KYNA, istotnie obniżyły żywotność wszystkich badanych komórek, w różnym stopniu, w zależności od użytego testu, jednak zawsze w nasileniu proporcjonalnym do stężenia (NIH/3T3 – stężenia 3,75–10 mM, GMK – 2,5–10 mM, CECC – 1,25–10 mM). W żadnym z badanych układów nie stwierdzono natomiast niekorzystnego wpływu stężeń do 1 mM na badane komórki. W przypadku pierwotnej hodowli komórek zarodka kurzego wykazano wręcz stymulację ich proliferacji przez KYNA w stężeniach poniżej 1 mM. Uzyskane wyniki wskazują na niską toksyczność kwasu kynureninowego *in vitro*.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Moroni F, Fossati S, Chiarugi A, Cozzi A., 2007. Kynurenic acid actions in brain and periphery, International Congress Series, 1304, 305–313.
- [2] Rozsa E, Robotka H, Vecsei L, 2008. The Janus-face kynurenic acid, Journal of Neural Transmission, 115, 1087–1091.

Praca finansowana z grantu NCN NN 308578540.



## CYTOTOKSYCZNOŚĆ KOMERCYJNYCH NANOKOLOIDÓW METALI SZLACHETNYCH W STOSUNKU DO KOMÓREK HODOWLI NIH/3T3

### CYTOTOXICITY OF COMMERCIALY AVAILABLE NOBLE METAL NANOCOLLOIDS IN NIH/3T3 CELLS

Joanna Małaczewska, Roman Wójcik, Andrzej Krzysztof Siwicki

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: j.malaczewska7@wp.pl

**Wstęp:** Nanotechnologia zajmuje się komponowaniem materiałów w nanoskali (rozmiary poniżej 100 nm) w celu osiągnięcia unikatowych właściwości fizycznych, chemicznych i biologicznych, wynikających ze znacznego zwiększenia stosunku powierzchni do objętości cząstek. Rozmiary nanocząstek, zbliżone do wielkości białek, umożliwiają im penetrowanie naturalnych barier biologicznych, zaś badania potwierdzają pobieranie ich przez same komórki na drodze endocytozy, z następową kumulacją w cytoplazmie, wakuolach, mitochondriach i strefie okołojądrowej. Oddziaływanie nanocząstek na komórkę może mieć charakter chemiczny (uwolnienie jonów, wytwarzanie reaktywnych form tlenu, zaburzenia transportu błonowego, stres oksydacyjny) lub fizyczny (uszkodzenie błon biologicznych, zaburzenia metabolizmu). Kontakt zaś z kluczowymi organellami komórki – mitochondriami i jądrem komórkowym wywierać może w określonych warunkach działanie proapoptocznego i genotoksycznego.

**Cel pracy, materiał i metody:** Celem przeprowadzonych badań była ocena cytotoksyczności komercyjnych nanokoloidów metali szlachetnych – srebra, złota i miedzi, zawierających nanocząstki metaliczne 4N, o wyjściowym stężeniu 50 ppm, zawieszone w wodzie demineralizowanej (Nano-Tech, Polska), w stosunku do standardowo używanej w badaniach cytotoksyczności linii fibroblastów mysich NIH/3T3. Komórki hodowli inkubowano przez okres 1, 6 i 24 godzin ze wzrastającymi stężeniami nanocząstek (0,15–10 ppm w przypadku srebra i 1,25–20 ppm w przypadku złota i miedzi), następnie określając ich żywotność w spektrofotometrycznych testach redukcji MTT (ocena aktywności mitochondriów), NRU (pochłanianie czerwieni obojętnej – ocena integralności błon lizosomalnych) i LDH (uwalnianie dehydrogenazy mleczanowej – ocena integralności błon komórkowych).

**Wyniki i omówienie:** Nanokoloidy złota i miedzi cechowały się niską toksycznością w stosunku do linii NIH/3T3, niezależnie od użytego testu. Koloid złota obniżał, co prawda, żywotność komórek już od pierwszej godziny inkubacji, jednak tylko w dwóch najwyższych stężeniach (15 i 20 ppm), zaś koloid miedzi jedynie w najwyższym testowanym stężeniu (20 ppm) i dopiero po 24 godzinach inkubacji. Daleko bardziej toksyczny okazał się koloid srebra, powodując istotne obniżenie żywotności (test MTT) oraz wyciek LDH z uszkodzonych komórek już po 1 godzinie inkubacji (1,25–10 ppm). Efekt ten nieznacznie pogłębiał się z upływem czasu (stężenia 0,625–10 ppm po 6 i 24 godzinach). Test NRU okazał się nieprzydatny do oceny cytotoksyczności nanocząsteczek srebra, co mogło mieć związek z wysoką fotoreaktywnością nanosrebra pochłoniętego przez komórki. Tak wysoka toksyczność nanosrebra budzi pewne obawy odnośnie bezpieczeństwa jego bezpośredniej aplikacji, np. na skórę, zgodnie z zaleceniami producenta.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Elsaesser A., Howard C.V., 2012. Toxicology of nanoparticles, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 129–137.



## UDZIAŁ ANALOGÓW KWASU LIZOFOSFATYDOWEGO (LPA): OLEOYL-SN-GLYCERO-3-PHOSPHATE (L-A-LPA) I 1-OLEOYL-2-O-METHYL-RAC-GLYCEROPHOSPHOTHIONATE (OMPT) W KURCZLIWOŚCI MIĘŚNI GŁADKICH MACICY ŚWINI W ZALEŻNOŚCI OD OBECNOŚCI ZARODKÓW

### PARTICIPATION OF ANALOGUES OF LYSOPHOSPHATIDIC ACID (LPA): OLEOYL-SN-GLYCERO-3-PHOSPHATE (L-A-LPA) AND 1-OLEOYL-2-O-METHYL-RAC-GLYCEROPHOSPHOTHIONATE (OMPT) IN UTERINE SMOOTH MUSCLE CONTRACTILITY OF THE PREGNANT PIGS

Włodzimierz Markiewicz<sup>1</sup>, Katarzyna Kamińska<sup>2</sup>, Marek Bogacki<sup>2</sup>, Tomasz Maślanka<sup>1</sup>, Jerzy Jan Jaroszewski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii i Toksykologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: mark@uwm.edu.pl

<sup>2</sup>Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polska Akademia Nauk, ul. Tuwima 10, 10-247 Olsztyn

Prawidłowe rozmieszczenie zarodków w macicy świni determinuje pre- i postnatalny rozwój prosiąt. Nadmierne zagęszczenie zarodków w macicy upośledza miogenezę na skutek niedostatecznej podaży składników pokarmowych. Skutkuje to zamieraniem zarodków i upośledzeniem rozwoju prenatalnego. Badania przeprowadzone na myszach wykazały, że obecność receptora dla kwasu lizofosfatydowego ( $LPA_3$ ) w macicy warunkuje prawidłowy czas implantacji oraz równomierne rozmieszczenie zarodków. Wyższą ekspresję  $LPA_3$  stwierdzono również w błonie śluzowej macicy świni w okresie okołoinplantacyjnym oraz u svin ciężarnych. Zarodki svin mogą więc być źródłem sygnału do wzmożonej ekspresji receptora  $LPA_3$  i determinować równomierne ich rozmieszczenie.

**Cel badań:** Określenie udziału kwasu lizofosfatydowego i roli receptora  $LPA_1$ ,  $LPA_2$  i  $LPA_3$  w aktywności motorycznej macicy świni w okresie okołoinplantacyjnym w zależności od obecności zarodków w rogach macicy.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na ciężarnych loszkach ( $n = 10$ ) o masie ciała 100–120 kg podzielonych na dwie grupy, u których odizolowano jeden róg macicy celem uniemożliwienia w nim rozwoju zarodków. Po 10 dniach od zabiegu podano PMSG i po 72 godz. hCG, a następnie po 24 godz. loszki z grupy eksperymentalnej ( $n=5$ ) poddano inseminacji. W 12.–14. dniu ciąży (grupa badana) lub cyklu rujowego ( $n=5$ ; grupa kontrolna) zostały poddane ubojowi. Z mięśniówki gładkiej macicy pobierano skrawki o długości 3-4 mm, endometrium z myometriem (ENDO/MYO) i samo myometrium (MYO) tkanki pobierano z rogu macicy z zarodkami i z rogu odizolowanego. Wycinki zawieszano w 5 ml łaźni wodnej zawierającej płyn Krebsa-Ringera o temp. 37°C wysycany karbogenem (95%  $O_2$  i 5%  $CO_2$ ). Po 60–90 min preinkubacji badane wycinki stymulowano: a) OMPT (1-oleoyl-2-O-methyl-rac-glycerophosphothionate) agonistą receptora  $LPA_3$  w stężeniu 68 nM, 136 nM i 680 nM, b) L- $\alpha$ -LPA (oleoyl-sn-glycero-3-phosphate) agonistą receptorów  $LPA_1$  i  $LPA_2$  w stężeniu  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  i  $10^{-5}$  M. Aktywność skurczową mięśniówki gładkiej określano z wykorzystaniem zestawu do pomiaru skurczów izometrycznych Hugo Sachs Elektronik.

**Wyniki i omówienie:** Wykazano, że L- $\alpha$ -LPA wywierał istotny ( $P < 0,001$ ) wzrost napięcia mięśniówki gładkiej pobranej z rogu macicy z zarodkami w skrawkach (ENDO/MYO), natomiast zmian takich nie obserwowano w rogu odizolowanym. Z kolei OMPT zwiększał napięcie mięśniówki gładkiej w skrawkach ENDO/MYO ( $P < 0,01$ ) i MYO ( $P < 0,05$ ) pobranych z rogu z zarodkami jak i z rogu bez zarodków ( $P < 0,05$ ). Takie działanie może sugerować, że aktywacja  $LPA_1$  i  $LPA_2$  jest możliwa tylko w obecności zarodków, natomiast OMPT działając poprzez  $LPA_3$ , pobudza aktywność skurczową macicy niezależnie od obecności zarodków. Podsumowując, aktywacja receptorów  $LPA_1$ ,  $LPA_2$  i  $LPA_3$  w mięśniówce gładkiej macicy loszek we wczesnej ciąży powoduje zwiększenie aktywności skurczowej macicy. Uzyskane wyniki potwierdzają kluczową rolę LPA i jego receptorów w regulacji kurczliwości macicy świni w okresie okołoinplantacyjnym.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Hama K., Aoki J., Inoue A., Endo T., Amano T., Motoki R., Kanai M., Ye X., Chun J., Matsuki N., Suzuki H., Shibasaki M., Arai H., 2007. Embryo spacing and implantation timing are differentially regulated by LPA3-mediated lysophosphatidic acid signaling in mice. *Biol Reprod*, 77, 954–959.





## POLIBROMOWANE DIBENZO-*P*-DIOKSYNY I DIBENZOFURANY W TKANKACH RYB BAŁTYCKICH

## POLYBROMINATED DIBENZO-*P*-DIOXINS AND DIBENZOFURANS IN BALTIC FISH TISSUES

Sebastian Maszewski, Jadwiga Piskorska-Pliszczyńska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Radiobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: [sebastian.maszewski@piwet.pulawy.pl](mailto:sebastian.maszewski@piwet.pulawy.pl)

Polichlorowane dibenzo-*p*-dioksyny/dibenzofurany (PCDD/F) zawierające atomy chloru w pozycjach 2,3,7,8, zaliczane są do halogenowych węglowodorów aromatycznych (ang. HAH). Do grupy tej należą również związki posiadające w miejscu atomu chloru inny pierwiastek z grupy fluorowców (halogenów). W grupie tych substancji wyodrębnia się jeszcze dwie inne grupy zanieczyszczeń, zawierające zamiast chloru brom, którymi są polibromowane dibenzo-*p*-dioksyny i polibromowane dibenzofurany (PBDD/PBDF) oraz mieszane polichlorowane/polibromowane dibenzo-*p*-dioksyny/dibenzofurany (PXDD/F). Za główne źródła bromowanych dioksyn w środowisku uważa się procesy produkcji bromoorganicznych związków opóźniających spalanie tzw. BFR (ang. Brominated Flame Retardants), ich przetwarzanie, ulatnianie się z urządzeń gospodarstwa domowego oraz powstawanie podczas pożarów budynków i utylizacji odpadów. Ze względu na „odporność” metaboliczną i lipofilność związki te podlegają kumulacji w organizmach żywych, powodując efekty toksyczne takie jak: immunotoksyczność, ograniczenie rozrodczości, uszkodzenia układu nerwowego, kancerogenność czy toksyczność wątrobową. Mała ilość informacji na temat występowania PBDD/F w żywności i bliskie podobieństwo do wysoce toksycznych chlorowanych dioksyn zainspirowało do badania występowania tych związków w rybach bałtyckich [1, 2], które są cennymi składnikami zdrowej diety, a zarazem najbardziej zanieczyszczoną dioksynami żywnością pochodzenia zwierzęcego.

**Materiał i metody:** Opracowano metodę analityczną umożliwiającą wykrywanie i oznaczanie 5 kongenerów polibromowanych dibenzo-*p*-dioksyn (2,3,7,8-TeBDD, 1,2,3,7,8-PeBDD, 1,2,3,4/6,7,8-HxBDD, 1,2,3,7,8,9-HxBDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpBDD) i 5 polibromowanych dibenzofuranów (2,3,7,8-TeBDF, 1,2,3,7,8-PeBDF, 2,3,4,7,8-PeBDF, 1,2,3,4,7,8-HxBDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpBDF) w mięśniach ryb. Separację kongenerów prowadzono przy użyciu chromatografii gazowej z kolumną kapilarną TrBioDioxin-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,1 μm, ThermoScientific) sprzężonej ze spektrometrią mas wysokiej rozdzielczości (HRGC-HRMS). Pomiar rejestrowano się w trybie MID (ang. Multiple Ion Detection), monitorując po dwa najbardziej intensywne jony dla każdego badanego związku. Metoda ekstrakcji polega na pozyskaniu tłuszczu za pomocą szybkiego ekstraktora ASE (Accelerated Solvent Extraction) i oczyszczaniu z zastosowaniem wieloetapowej chromatografii kolumnowej i bazuje na metodologii stosowanej do oznaczania PCDD/F metodą rozcieńczeń izotopowych, funkcjonującą jako oficjalna metoda potwierdzająca analizy dioksyn w żywności.

**Wyniki i omówienie:** Opracowaną metodę poddano procesowi walidacji, w wyniku której uzyskano wyznaczone cechy wykonawcze metody i potwierdzono, że opracowana metoda nadaje się do zamierzonego zastosowania. Instrumentalny limit wykrywalności metody wynosi 0,15 pg dla kongenerów Te- i Pe-BDD/F, 3 pg dla HxBDD/F i 3 pg dla HpBDD/F. W pracy przedstawiono pierwsze, wstępne krajowe wyniki badań nad występowaniem PBDD/F w tkankach ryb bałtyckich.

### Piśmiennictwo:

- [1] Haglund P., Malmvärn A., Bergek S., Bignert A., Kautsky L., Nakano T., Wiberg K., Asplund L., 2007. Brominated dibenzo-*p*-dioxins: a new class of marine toxins? *Environmental Science & Technology*, 41:9, 3069–3074.
- [2] Piskorska-Pliszczyńska J., Maszewski S., Warenik-Bany M., Mikołajczyk Sz., Góraj Ł., Wijaszka T., 2011. Badania urzędowe ryb bałtyckich w kierunku dioksyn w latach 2006–2010, *Toksykologia w ocenie bezpieczeństwa chemicznego ludności*, ISBN 978-83-61208-97-6.





## OCENA WPŁYWU DEKSAMETAZONU I MELOKSYKAMU NA PROLIFERACJĘ BYDŁĘCYCH LIMFOCYTÓW T $\gamma\delta$ FENOTYPIE CD25<sup>+</sup>WC1<sup>+</sup> I CD25<sup>-</sup>WC1<sup>+</sup> – BADANIA *IN VITRO*

### EVALUATION OF INFLUENCE OF DEXAMETHASONE AND MELOXICAM ON THE PROLIFERATION OF BOVINE CD25<sup>+</sup>WC1<sup>+</sup> AND CD25<sup>-</sup>WC1<sup>+</sup> $\gamma\delta$ T CELLS: AN *IN VITRO* STUDY

Tomasz Maślanka, Jerzy Jan Jaroszewski

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii i Toksykologii, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn, tomasz.maslanka@uwm.edu.pl

Wyniki naszych wcześniejszych badań [1] prowadzonych na limfocytach T  $\gamma\delta$  (WC1<sup>+</sup>) była wskazują, że deksametazon zwiększa liczbę bezwzględną limfocytów o fenotypach CD25<sup>high</sup>WC1<sup>+</sup> i CD25<sup>low</sup>WC<sup>+</sup>, natomiast powoduje ubytek komórek CD25<sup>-</sup>WC1<sup>+</sup>. Wykazaliśmy ponadto, że meloksycam redukuje znacząco liczbę bezwzględną limfocytów o fenotypie CD25<sup>high</sup>WC1<sup>+</sup>.

**Cel badań:** Ustalenie, czy indukowane deksametazonem i meloksycamem zmiany w liczebności bydłych limfocytów WC1<sup>+</sup> miały związek z wpływem leków na proliferację tych komórek.

**Materiały i metody:** Krew pozyskiwano od 12-miesięcznych jałówek. Komórki jednojądrzaste (PBMC) izolowano z krwi świeżej heparynizowanej poprzez wirowanie w gradiencie gęstości, a następnie inkubowano w obecności bądź nieobecności deksametazonu lub meloksycamu. Zawartość leków w medium hodowlanym odzwierciedlała stężenia, jakie leki te mogą osiągać we krwi bydła, gdy stosowane są w dawkach leczniczych (deksametazon: 10<sup>-7</sup> M, meloksycam: 5 x 10<sup>-6</sup> M) oraz stężenia 10-krotnie mniejsze (deksametazon 10<sup>-8</sup> M, meloksycam: 5 x 10<sup>-7</sup> M). Kontrolę stanowiły komórki, na które nie oddziaływało żadnym z badanych leków. Aktywność proliferacyjna komórek była oceniana na podstawie cytometrycznej (FACSCanto II, BD Biosciences) analizy stopnia inkorporacji bromodeoksyurydyny (BrdU) do DNA. W tym celu PBMC były stymulowane 24 godz. konkanawaliną A w obecności BrdU (60  $\mu$ M) w czasie ostatnich 8 godzin inkubacji. Następnie komórki zebrano i wyznakowano zewnątrzkomórkowo w kierunku obecności cząsteczek WC1 i CD25 (FITC/anty-WC1 + PE/anty-CD25; Serotec). Kolejne etapy znakowania komórek mające na celu określenie stopnia inkorporacji BrdU do ich DNA przeprowadzono zgodnie z instrukcją producenta dołączoną do zestawu APC BrdU Flow Kit (BD Biosciences). Uzyskane wyniki stanowią średnią ( $\pm$ SEM) trzech niezależnych eksperymentów; w każdym eksperymencie używano PBMC pochodzące od 4 zwierząt (sumarycznie n=12).

**Wyniki i omówienie:** W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że deksametazon znacząco ( $p < 0,001$ ) redukuje proliferację komórek należących zarówno do subpopulacji limfocytów o fenotypach CD25<sup>high</sup>WC1<sup>+</sup> i CD25<sup>low</sup>WC<sup>+</sup>, jak i CD25<sup>-</sup>WC1<sup>+</sup>. Nie wykazano wpływu meloksycamu na proliferację komórek z którejkolwiek z ocenianych subpopulacji. Uzyskane wyniki dowodzą, że indukowany deksametazonem wzrost liczby bezwzględnej limfocytów CD25<sup>high</sup>WC1<sup>+</sup> i CD25<sup>low</sup>WC1<sup>+</sup>, który obserwowaliśmy w naszych wcześniejszych badaniach [1], nie był wynikiem zwiększonej proliferacji tych komórek. Co zaś się tyczy wywołanej przez deksametazon utraty komórek CD25<sup>-</sup>WC1<sup>+</sup>, otrzymane rezultaty wskazują, że zjawisko to może wynikać nie tylko z proapoptotycznego, ale również z antyproliferacyjnego działania leku wobec tych komórek. Z kolei indukowana meloksycamem redukcja liczby bezwzględnej komórek CD25<sup>high</sup>WC1<sup>+</sup> była najwyraźniej efektem regulacji w dół ekspresji cząsteczki CD25 na komórkach CD25<sup>high</sup>WC1<sup>+</sup>. Wskazują na to wyniki prezentowanych badań, w których nie wykazano antyproliferacyjnego wpływu meloksycamu na limfocyty CD25<sup>high</sup>WC1<sup>+</sup> oraz wyniki naszych wcześniejszych badań [1], które wykluczyły proapoptotyczne oddziaływanie leku względem tych komórek.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Maślanka T., Jaroszewski J.J., Markiewicz W., Ziółkowski H., 2011. Dexamethasone and meloxicam reduce the percentage of *IL-10*<sup>+</sup> cells within WC1<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> and WC1<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> subsets. XIV Kongres Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej, Gdańsk 16–18 czerwca 2011, Materiały konferencyjne USO32.



## POZIOMY I PROFILE DIOKSYN W RYBACH POŁAWIANYCH W RZECIE WISŁA

## DIOXIN LEVELS AND PROFILES IN FISH CAUGHT IN THE VISTULA RIVER

Szczepan Mikołajczyk, Sebastian Maszewski, Małgorzata Warenik-Bany, Monika Baran,  
Jadwiga Piskorska-Pliszczyńska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Radiobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail [szczepan.mikolajczyk@piwet.pulawy.pl](mailto:szczepan.mikolajczyk@piwet.pulawy.pl)

Dioksyny należą do trwałych zanieczyszczeń organicznych. Powstają w procesach spalania przy niedoborze tlenu i przenoszone drogą powietrzną gromadzą się w środowisku wodno-łądowym. Wykazują właściwości lipofilne, co powoduje ich kumulację w wodnym łańcuchu troficznym.

**Cel pracy:** Przedstawienie stopnia zanieczyszczenia ryb wolno żyjących 29 kongenerami PCDD, PCDF i dl-PCB, pobranych w okolicy Krakowa i Nowego Dworu Mazowieckiego.

**Materiał i metody:** W badaniach zastosowano metodę rozcieńczeń izotopowych z użyciem systemu wysoko rozdzielczej chromatografii gazowej sprzężonej z wyso korozdzielczą spektrometrią mas. Poddano analizie chemicznej próbki sandacza (*Sander lucioperca*), szczupaka (*Esox lucius*), bolenia (*Aspius aspius*), leszcza (*Abramis brama*), płoci (*Rutilus rutilus*) pochodzących z okolic Nowego Dworu Mazowieckiego oraz leszcza, płoci i klenia (*Squalius cephalus*) z okolic Krakowa.

**Wyniki i omówienie:** W żadnej z badanych ryb nie stwierdzono stężeń dioksyn powyżej dopuszczalnych limitów (4 pg WHO-TEQ/g dla dioksyn i furanów i 8 pg WHO-TEQ/g ś.m. sumy PCDD, PCDF i dl-PCB). Dominowały kongenery 2,3,7,8-TCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8 HxCDF oraz dwa kongenery dioksynopodobnych polichlorowanych bifenyli (PCB 118 i PCB 105). Wysoko chlorowane kongenery hepta i okta PCDD i PCDF występowały w stężeniach poniżej limitów oznaczalności. W rybach z okolic Nowego Dworu zakres stężeń PCDD, PCDF obejmował od 0,13±0,02 do 0,61±0,09, zaś stężeń dl-PCB od 0,20±0,03 do 1,56±0,26 pg WHO-TEQ/g ś.m. Suma PCDD, PCDF i dl-PCB wynosiła od 0,35±0,06 do 1,86±0,31 pg WHO-TEQ/g ś.m. Zdecydowanie przeważała zawartość dl-PCB (65%) nad kongenerami dioksyn i furanów (35%). Ryby z okolic Krakowa okazały się bardziej zanieczyszczone badanymi związkami. Stężenia dl-PCB wynosiły od 1,06±0,18 do 2,86±0,48 pg WHO-TEQ/g ś.m., zaś suma wszystkich kongenerów to watości od 1,33±0,22 do 3,49±0,58 pg WHO-TEQ/g ś.m. Kongenery dl-PCB stanowiły około 80%. W rybach z okolic Krakowa stwierdzono nieznacznie podwyższone zawartości dioksyn i furanów w stosunku do ryb z innych łowisk słodkowodnych (od 0,25±0,04 do 0,65±0,09 pg WHO-TEQ/g ś.m.). Zawartość dioksyn w badanych rybach z obydwu łowisk wiślanych była znacznie niższa niż w rybach pochodzących z innych dużych rzek europejskich (Łaba, Ren), w których stężenia określono w zakresie 4–23 pg WHO-TEQ/g ś.m. [1]. Była ona również znacznie niższa niż w rybach bałtyckich takich jak łosoś, szprot [2].

**Piśmiennictwo:**

- [1] Schröter-Kermani C., Herrmann T., Pöpke O., Stachel B., 2004. PCDDs, PCDFs, and dioxin like PCBs in breams (*Abramis brama*) from German rivers: results from the German Environmental Specimen Bank, Organohalogen Compounds, 66, 1779–1782.
- [2] Piskorska-Pliszczyńska J., Maszewski S., Warenik-Bany M., Mikołajczyk Sz., Góraj Ł., Wijaszka T., 2011. Badania urzędowe ryb bałtyckich w kierunku dioksyn w latach 2006–2010. Toksykologia w ocenie bezpieczeństwa chemicznego ludności, ISBN 978-83-61208-97-6.

Badania wykonano w ramach projektu badawczo-rozwojowego NCBiR nr 12-0127-10/2010.



## WRAŻLIWOŚĆ USTALONYCH LINII KOMÓRKOWYCH PSIEGO CHŁONIAKA I BIAŁACZKI NA LEKI CYTOSTATYCZNE STOSOWANE STANDARDOWO W TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWEJ

### SENSITIVITY OF CANINE LYMPHOMA AND LEUKAEMIA CELL LINES TO COMMONLY USED ANTINEOPLASTIC DRUGS

Aleksandra Pawlak, Błażej Poźniak

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biochemii, Farmakologii i Toksykologii, Zakład Farmakologii i Toksykologii, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław

**Wstęp:** Chłoniak (*lymphoma*) to jeden z najczęściej występujących nowotworów układu hematopoetycznego u psów. Dzięki zastosowaniu ustalonych linii komórkowych psiego chłoniaka i białaczki możliwe jest badanie mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój tych nowotworów u psów oraz badania nad zastosowaniem nowych strategii terapeutycznych.

**Cel badania:** Ustalenie profilu wrażliwości ustalonej linii T-komórkowej chłoniaka psa (CL-1) i B-komórkowej białaczki psa (GL-1) na standardowo stosowane leki przeciwnowotworowe: deksametazon (DEX), arabinozyd cytozyny (ARA), doksorubicynę (DOX) oraz 4-hydroksycyklofosfamid (4-HF). Porównując, w badaniu zastosowano także komórki linii Jurkat (ludzka białaczka T-limfoblastyczna).

**Materiał i metody:** Komórki linii GL-1, CL-1 i Jurkat poddano 72-godzinnej ekspozycji na DEX w stężeniach 0,005 µg/ml – 24 µg/ml, ARA w stężeniach 0,01 µM – 4 µM, DOX w stężeniach 0,05 µg/ml – 10 µg/ml oraz (4-HF) w stężeniach 0,1 µg/ml – 100 µg/ml. Do oceny proliferacji komórek zastosowano spektrofotometryczny test pomiaru aktywności mitochondrialnej dehydrogenazy bursztynianowej, która przekształca bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl)-2,5-difenyloctetrazoliowy (MTT), w nierozpuszczalny formazan. Ilość formazanu jest proporcjonalna do liczby żywych komórek. Na podstawie wyznaczonej gęstości optycznej obliczono stopień zahamowania wzrostu komórek pod wpływem badanych związków. Następnie obliczono stężenie badanego związku, które powoduje zahamowanie proliferacji komórek w 50% (IC<sub>50</sub>).

**Wyniki:** Obliczone wartości IC<sub>50</sub> przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wartości IC<sub>50</sub> dla trzech badanych linii komórkowych

Badana substancja	IC <sub>50</sub> GL-1	IC <sub>50</sub> CL-1	IC <sub>50</sub> Jurkat
Dokсорubicyna (µg/ml)	0,08	0,08	0,16
4-OH-cyklofosfamid (µg/ml)	1,83	3,97	2,97
Arabinozyd cytozyny (µM)	0,50	>4	1,27
Deksametazon (µg/ml)	>24	>24	>24

**Dyskusja:** Przeprowadzone badania wykazały, że linią najbardziej wrażliwą na działanie wszystkich zastosowanych substancji była GL-1. CL-1 była podobnie wrażliwa na DOX, natomiast na pozostałe leki wykazała największą oporność. Otrzymane wyniki wskazują na zróżnicowany efekt cytotoksyczny standardowo używanych leków przeciwnowotworowych na badane linie komórkowe. Sugeruje to konieczność stosowania różnych linii komórkowych w opracowywaniu nowych strategii terapeutycznych w chłoniakach i białaczkach u psów.



## CHŁONIAK FOLIKULARNY U PSA. OPIS PRZYPADKU

## FOLLICULAR LYMPHOMA IN DOG. CASE REPORT

Aleksandra Pawlak<sup>1</sup>, Ada Krupa<sup>3</sup>, Błażej Poźniak<sup>1</sup>, Wojciech Hildebrand<sup>3</sup>, Stanisław Dzimira<sup>2</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Biochemii, Farmakologii i Toksykologii, Zakład Farmakologii i Toksykologii; <sup>2</sup>Katedra Patologii, Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław; <sup>3</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław

**Wstęp:** Chłoniak (*lymphoma*) to jeden z najczęściej występujących nowotworów układu hematopoetycznego u psów. Obejmuje on heterogenną grupę nowotworów wywodzących się z limfocytów znajdujących się na różnym etapie różnicowania [1]. Chłoniak folikularny wywodzi się z limfocytów B i jest zwykle nowotworem o niskim stopniu złośliwości, charakteryzującym się powolnym rozwojem.

**Omówienie przypadku:** Przedstawiono opis przypadku chłoniaka folikularnego u 6-letniej suki rasy dalmatyńczyk. W przeprowadzonych badaniach stwierdzono powiększenie prawego podżuchowego węzła chłonny. Jednocześnie nie wykazano odchyień od normy w wynikach badania morfologicznego i biochemicznego krwi, ultrasonograficznego jamy brzusznej i radiograficznego klatki piersiowej. Powiększony węzeł chłonny został chirurgicznie usunięty i poddany badaniu histopatologicznemu oraz immunohistochemicznemu. Określenie immunofenotypu komórek nowotworowych wykonano metodą cytometrii przepływowej. Na podstawie wyników wykonanych badań postawiono rozpoznanie: stadium kliniczne I a chłoniaka folikularnego (wg klasyfikacji WHO).

**Piśmiennictwo:**

- [1] Gauthier M.J., Aubert I., Abrams-Ogg A., Woods J.P., Bienzle B., 2005. The immunophenotype of Peripheral Blood Lymphocytes in Clinically Healthy Dogs and Dogs with Lymphoma in Remission. *J. Vet. Int. Med.*, 19, 2, 193–199.



## WPŁYW BETULINY I FOSFATYDYLOBETULINY NA PROLIFERACJĘ KOMÓREK MYSIEJ USTALONEJ LINII MAKROFAGOWEJ I LIMFOBLASTYCZNEJ

### INFLUENCE OF BETULIN AND PHOSPHATIDYLBETULIN ON THE PROLIFERATION OF MURINE MACROPHAGE AND LYMPHOBLASTIC CELL LINES

Aleksandra Pawlak<sup>1</sup>, Błażej Poźniak<sup>1</sup>, Barbara Tubek<sup>2</sup>, Agnieszka Suszko<sup>1</sup>,  
Czesław Wawrzeńczyk<sup>2</sup>, Bożena Obmińska-Mrukowicz<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <sup>1</sup>Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biochemii,  
Farmakologii i Toksykologii, Zakład Farmakologii i Toksykologii, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław;  
<sup>2</sup>Wydział Nauk o Żywności, Katedra Chemii, ul. C.K. Norwida 25, 50-375 Wrocław

**Wprowadzenie:** Betulina (lup-20(29)-en-3 $\beta$ ,28-diol) jest naturalnie występującym w przyrodzie triterpenem pentacyklicznym typu lupanu, izolowanym z kory białych brzoź (np. *Betula pendula* Roth.). Wykazuje ona liczne aktywności biologiczne, z których najistotniejszymi są działanie antybakteryjne, przeciwgrzybiczne, przeciwzapalne, przeciwalergiczne, cytotoksyczne i przeciwwirusowe. Niestety, działanie antyproliferacyjne betuliny jest nieselektywne w stosunku do linii komórkowych prawidłowych i nowotworowych. Ponadto betulina charakteryzuje się niską polarnością i ograniczoną rozpuszczalnością w roztworach wodnych, stąd jej transport przez błony komórkowe jest utrudniony. Funkcjonalizacja betuliny kwasem fosfatydowym, otrzymanym z fosfatydylocholin z żółtka jaja kurzego, umożliwiła zwiększenie polarności nowego estru – 28-O-fosfatydylobetuliny (DAPB)<sup>1</sup>. Kwas fosfatydowy, jako fragment fosfolipidowy w estrze, odpowiada również za wzrost powinowactwa 28-O-fosfatydylobetuliny do błon komórkowych. Nowy ester betuliny może znaleźć zastosowanie w medycynie i przemyśle farmaceutycznym, m.in. w terapii przeciwnowotworowej.

**Cel pracy:** Określenie wpływu betuliny (BET) i fosfatydylobetuliny (DAPB) na proliferację mysiej ustalonej linii makrofagowej (J774E.1) i limfoblastycznej (D10.G4.1).

**Materiał i metody:** Komórki linii J774.E i D10.G4.1 poddano 72-godzinnej ekspozycji na BET i DAPB w stężeniach 2–50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Do oceny proliferacji komórek zastosowano spektrofotometryczny test aktywności mitochondrialnej dehydrogenazy bursztynianowej, która przekształca bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl)-2,5-difenylotetrazoliowy (MTT) w nierozpuszczalny formazan. Ilość formazanu jest proporcjonalna do liczby żywych komórek. Na podstawie wyznaczonej gęstości optycznej obliczono stopień zahamowania wzrostu komórek pod wpływem badanych związków. Wykonano co najmniej 3 niezależne powtórzenia doświadczenia.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie wyników zahamowania proliferacji podjęto próbę wyznaczenia stężenia związku, przy którym zahamowanie proliferacji wynosi 50% ( $\text{IC}_{50}$ ). Stwierdzono działanie cytotoksyczne betuliny w stosunku do zastosowanych w badaniu linii komórkowych, a wartość  $\text{IC}_{50}$  wyniosła 4,3  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dla komórek linii J774.E i 10,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  dla komórek linii D10.G4.1. W badanym zakresie stężeń nie stwierdzono cytotoksycznego działania DAPB na komórki obydwu linii. Wykazano, że modyfikacja cząsteczki betuliny polegająca na przyłączeniu cząsteczki kwasu fosfatydowego (28-O-(1,2-diacyl-*sn*-glicero-3-fosfatydylo)-betulina) znacząco zmniejsza cytotoksyczność związku względem komórek badanych linii.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Wawrzeńczyk C., Tubek B., Smuga D., Smuga M.: Synthesis of 28-O-(1,2-diacyl-*sn*-glycero-3-phospho)-betulin, Synthetic Communications, 2011, doi: 10.1080/00397911.2011.588817.





## PRZYPADEK SKAŻENIA DROBIU DIOKSYNAMI

## A CASE OF POULTRY CONTAMINATION WITH DIOXINS

Jadwiga Piskorska-Pliszczyńska<sup>1</sup>, Szczepan Mikołajczyk<sup>1</sup>, Sebastian Maszewski<sup>1</sup>,  
Małgorzata Warenik-Bany<sup>1</sup>, Jarosław Rachubik<sup>1</sup>, Monika Baran<sup>1</sup>, Roman Tomas<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Radiobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail jagoda@piwet.pulawy.pl

<sup>2</sup>Powiatowy Inspektorat Weterynarii w Mielcu, ul Skłodowskiej 8, 39-300 Mielec

Dioksyny to grupa 29 toksycznych kongenerów, do których należy siedem polichlorowanych dibenzo-*p*-dioksyn (PCDD), dziesięć polichlorowanych dibenzofuranów (PCDF) oraz dwanaście dioksynopodobnych polichlorowanych bifenyli (dl-PCB). Związki te zaliczane są do trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO) stanowiących zagrożenie dla zdrowia człowieka [1, 2]. Ponieważ głównym źródłem dioksyn dla człowieka jest żywność pochodzenia zwierzęcego (ponad 80%), dlatego ten rodzaj żywności jest objęty obligatoryjnymi badaniami urzędowymi [2]. W 2011 r., podczas wykonywania planu krajowych urzędowych badań kontrolnych żywności w kierunku dioksyn, w próbcie jaj pochodzących z województwa podkarpackiego stwierdzono znaczne przekroczenie dopuszczalnej zawartości PCDD i PCDF, wynoszące dla jaj 3 pg WHO-TEQ/g tł. [3]. Stężenie 17 kongenerów tych związków wynosiło 12,39±2,03 pg WHO-TEQ/g tł., natomiast zawartość dl-PCB była niska (0,16±0,03 pg WHO-TEQ/g tł.). Zgodnie z wymaganiami prawnymi, w przypadku stwierdzenia próbek niezgodnych z wymaganiami, Inspekcja Weterynaryjna ma obowiązek ustalić źródło pochodzenia dioksyn. Dlatego z tego gospodarstwa pobrano do badań kury nioski, jaja, paszę, którą żywiono zwierzęta oraz próbki ziemi.

**Materiał i metody:** Oznaczanie 29 kongenerów PCDD, PCDF i dl-PCB wykonano w mięśniach udowych, piersiowych, tłuszczu sadelkowym, wątrobie kur niosek oraz w jajach, paszy i próbkach gleby pochodzących z tego gospodarstwa. W badaniach zastosowano metodę rozcieńczeń izotopowych z użyciem systemu wysoko rozdzielczej chromatografii gazowej sprzężonej z wysoko rozdzielczą spektrometrią mas (HRGC-HRMS) [4].

**Wyniki i omówienie:** Paszę wykluczono jako źródło skażenia, ponieważ zawierała ilości śladowe badanych związków (0,06±0,01 pg WHO-TEQ/g). Prawdopodobną przyczyną okazała się gleba, która pobierana była wraz z pożywieniem. Stężenia dioksyn i furanów w glebie pobranej z dwóch różnych kur-ników wynosiły 25,39±3,63 i 10,02±1,64 pg WHO-TEQ/g gleby, zaś profile kongenerów dioksyn, furanów i dl-PCB były podobne do występujących w tkankach niosek. Mięśnie piersiowe zawierały od 1,71±0,28 do 83,08±13,61 pg, udowe od 2,38±0,39 do 95,37±15,62, zaś tłuszcz od 1,58±0,26 do 104,16±17,06 pg WHO-TEQ/g tł. dla dioksyn i furanów. Największą kumulację PCDD i PCDF stwierdzono w wątrobie (od 1,53±0,25 do 286,92±47,00 pg WHO-TEQ/g tł.).

**Piśmiennictwo:**

- [1] Opinion of the SCF on Risk Assessment of Dioxin and Dioxin-like PCBs in Food, 22 November 2000, [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out78\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out78_en.pdf)
- [2] Struciński P., Piskorska-Pliszczyńska J., Góralczyk K., Warenik-Bany M., Maszewski S., Czaja K., Ludwicki J. K., 2011. Dioksyny a bezpieczeństwo żywności, *Roczniki PZH*, 62:1, 3–17.
- [3] Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r., *Dz. U. L* 364, 1–20.
- [4] Piskorska-Pliszczyńska J., Lizak R., Maszewski S., Małagocki P., Wijaszka T., 2009. Survey of persistent organochlorine contaminants (PCDD, PCDF, dl-PCB) in Baltic fish and fish meals, *Bulletin of the Veterinary Institute in Puławy*, 53:4, 825–831.





## FARMAKOKINETYKA TKANKOWA TULATHROMYCYN – WSTĘPNE WYNIKI BADAŃ

### THE TISSUE PHARMACOKINETICS OF TULATHROMYCIN – THE PRELIMINARY STUDY

Andrzej Posyniak, Anna Gajda, Tomasz Błądek, Artur Jabłoński, Jan Żmudzki

Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,  
Al. Partyzantów 57, 24-100-Puławy, e-mail: aposyn@piwet.pulawy.pl

Tulatromycyna jest nowym, półsyntetycznym antybiotykiem makrolidowym, który znalazł zastosowanie w terapii infekcji występujących u bydła i świń. Cechą charakterystyczną makrolidów jest szybka dystrybucja tkankowa i wolna eliminacja. Natomiast dotychczas nie badano, jaki wpływ na farmakokinetykę i dystrybucję tkankową ma infekcja wywołana przez chorobotwórcze szczepy bakteryjne. Z piśmiennictwa wiadomo [1], że infekcje w znacznym stopniu mogą modyfikować parametry farmakokinetyczne niektórych leków, co w dalszej kolejności może istotnie wpływać na czas ich pozostawania w organizmie zwierzęcym. Z kolei pozostawanie wysokich stężeń leku i/lub jego metabolitów może wiązać się z zagrożeniem zdrowia konsumentów żywności zwierzęcego pochodzenia.

**Cel pracy:** Przedstawienie wstępnych wyników badań nad farmakokinetyką tkankową tulatromycyny u świń, zaś cały projekt obejmuje między innymi porównanie dystrybucji i czasu pozostawania antybiotyku w organizmie świń zdrowych i zainfekowanych szczepem *A. pleuropneumoniae*.

**Materiał i metody:** Przed przystąpieniem do badań opracowano procedury badawcze dla oznaczania tulatromycyny w osoczu i w tkankach świń. Do analizy obecności tulatromycyny w próbkach materiału biologicznego zastosowano technikę chromatografii cieczowej w tandemie z detektorem mas. Opracowane procedury badawcze zostały zwalidowane zgodnie z zaleceniami regulacji 2002/657/EC [2]. Materiał do badań stanowiły próbki mięśni, wątrób, płuc, serc, nerek i osocza pobrane od świń, którym uprzednio podano terapeutyczną dawkę tulatromycyny. Próbkę do badań pobierano w pierwszym, siódmym i czternastym dniu od podania leku.

**Wyniki i omówienie:** Opracowane procedury badawcze przygotowano pod kątem badania śladowych stężeń tulatromycyny w próbkach materiału biologicznego dzięki czemu możliwe będzie prowadzenie badań pozostałościowych. Wyniki walidacji wskazują, że zastosowane warunki przygotowania próbek pozwalają na uzyskiwanie powtarzalnych i odtwarzalnych odzysków oznaczania testowanego antybiotyku. Wyniki analiz materiału pobranego od zwierząt, którym podano tulatromycynę, wskazują, że opracowane metody mogą być zastosowane do planowanych badań.

Wstępne wyniki badań wskazują, że najwyższe stężenia tulatromycyny występowały w pierwszym dniu od podania. Najwyższe stężenia stwierdzono w nerkach, a następnie sercu, płucach, wątrobie, mięśniach i osoczu. Po upływie 7 dni od podania oznaczone stężenia były znacznie mniejsze niż w pierwszym dniu, natomiast różnica stężeń między 7. a 14. dniem od podania nie była już tak wyraźna. Jedynie w osoczu zawartość tulatromycyny szybko malała. Badania na farmakokinetykę tkankową będą kontynuowane na zwierzętach, które zostaną uprzednio zainfekowane chorobotwórczym szczepem bakteryjnym *A. pleuropneumoniae*.

#### Piśmiennictwo

- [1] Agero H., Friis Ch. Nielsen J.P., 2000. Pharmacokinetics and tissue distribution of amoxicillin in healthy and *Salmonella* Typhimurium-inoculated pigs, Am. J. Vet. Res., 61, 992–996.
- [2] Anon.: Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning

Badania są finansowane z projektu N N 308575540.



## WOLNO ŻYJĄCE RYBY SŁODKOWODNE JAKO WSKAŹNIK SKAŻENIA WÓD POWIERZCHNIOWYCH LEKAMI PRZECIWBAKTERYJNYMI

### WILDE FISH AS INDICATOR OF THE SURFACE WATER CONTAMINATION WITH ANTIBACTERIAL COMPOUNDS

Andrzej Posyniak, Małgorzata Gbylik, Kamila Mitrowska, Tomasz Błądek, Anna Gajda,  
Tomasz Śniegocki, Jan Żmudzki

Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,  
Al. Partyzantów 57, 24-100-Puławy, e-mail: aposyn@piwet.puławy.pl

Antybiotyki i inne leki przeciwbakteryjne po wydaleniu z organizmu zwierzęcego mogą przedostawać się z gleby do wód gruntowych i dalej do wód powierzchniowych. W zależności od właściwości fizykochemicznych część tych substancji może zalegać w osadach dennych. Ryby wolno żyjące w środowisku zawierającym śladowe ilości leków wskutek zanieczyszczenia w łańcuchu pokarmowym mogą być potencjalnym źródłem informacji o ewentualnych zagrożeniach wynikających ze skażenia wody antybiotykami, a na potrzeby oznaczania stosowane są odpowiednie procedury badawcze [1].

**Materiał i metody:** Badania rozpoczęto od przygotowania procedury analitycznej, która w jednym toku analitycznym umożliwia wykrywanie i oznaczanie zawartości różnych leków przeciwbakteryjnych (beta-laktamów, sulfonamidów, tetracyklin, aminoglikozydów, makrolidów, fluorochinolonów), a jako technikę analizy zastosowano chromatografię cieczową ze spektrometrią mas (LC-MS). Ustalono warunki pracy detektora MS oraz rozdziału chromatograficznego. Określono optymalne warunki izolacji leków z mięśni ryb oraz oczyszczania ekstraktów.

Materiał do badań stanowiły całe ryby (wszystkożerne i drapieżne) odłowione w wybranych rzekach i jeziorach (Jezioro Łańskie, rzeka Brda – oddziaływanie ferm trzody chlewnej, rzeka Wkra – oddziaływanie ferm drobiowych, Dunajec w okolicach Zbiornika Rożnowskiego, Wisła na wysokości Krakowa i Warszawy, Odra na wysokości Wrocławia i ujścia Warty, Zbiornik Elektrowni Rybnik).

**Wyniki i omówienie:** Do przygotowania próbek opracowano ciąg analityczny umożliwiający jednoczesne oznaczanie różnych grup antybiotyków, w tym również aminoglikozydów, które zazwyczaj analizowane są oddzielnie. Takie podejście do badań pozwala na znacznie tańsze i szybsze uzyskanie wyników. Całą procedurę poddano walidacji według wymagań Decyzji 2002/657/EC [2]. Wyniki walidacji wskazywały, że zastosowane warunki przygotowania próbek pozwalają na uzyskiwanie powtarzalnych i odtwarzalnych odzysków testowanych leków.

Przeprowadzono badania zawartości leków przeciwbakteryjnych w mięśniach 180 ryb słodkowodnych. W dotychczas analizowanym materiale nie wykryto obecności badanych antybiotyków w stężeniach wyższych od limitu decyzyjnego. Badania będą kontynuowane.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Smith S., Gleseker C.H., Reimsschuessel R., Decker C.H., Carson M.C., 2009. Simultaneous screening and confirmation of multiple classes of drug residues in fish by liquid chromatography – ion trap mass spectrometry, *J Chromatogr. A*, 1216, 8224–8232.
- [2] Anon.: Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning

*Badania prowadzone są w związku z projektem finansowanym przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (NCBiR nr 12-0127-10).*



## IDENTYFIKACJA ŻYWNOŚCI NAPROMIENIONEJ POPRZEZ OZNACZANIE 2-ALKILOCYKLOBUTANONÓW – PRODUKTÓW RADIOLIZY TŁUSZCZÓW

### IDENTIFICATION OF IRRADIATED FOOD BY DETERMINATION OF 2-ALKYLCYCLOBUTANONES – PRODUCTS OF LIPID RADIOLYSIS

Jarosław Rachubik, Łukasz Góraj, Jadwiga Piskorska-Pliszczyńska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Radiobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: rachubik@piwet.pulawy.pl

Utrwalanie radiacyjne, zwane inaczej napromienianiem bądź irradacją, jest jedną z metod konserwacji środków spożywczych. W procesie tym napromienianą żywność poddaje się działaniu promieni X, strumienia wysokoenergetycznych elektronów lub promieniowania gamma pochodzącego z izotopów promieniotwórczych ( $^{60}\text{Co}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ). Głównymi celami napromieniania są wydłużenie okresu przydatności do spożycia oraz zapewnienie bezpieczeństwa mikrobiologicznego oraz parazytologicznego artykułów żywnościowych [1].

**Cel pracy:** Opracowanie narzędzia służącego do identyfikacji napromienionej żywności pochodzenia zwierzęcego przez wykrywanie specyficznych produktów radiolizy tłuszczów – 2-alkilocyklobutanonów i jego weryfikacja w badaniach doświadczalnie napromienionych próbek mięśni oraz potencjalnie napromienionych próbek środków spożywczych.

**Materiał i metody:** Zoptymalizowano warunki rozdzielania i detekcji dwóch markerów irradacji (2-dodecylcyklobutanonu, 2-tetradecylcyklobutanonu) przy zastosowaniu kapilarnej chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią mas. Przetestowano różne metody izolacji markerów z mięśni. Były to klasyczna ekstrakcja w aparacie Soxhleta, bezpośrednia ekstrakcja rozpuszczalnikiem (DSE) oraz przyspieszona ekstrakcja rozpuszczalnikiem w warunkach podwyższonego ciśnienia i temperatury (ASE). Na podstawie uzyskanych wyników do dalszych prac wykorzystano technikę ASE, dzięki której zautomatyzowano część postępowania oraz ograniczono zużycie odczynników chemicznych. Zoptymalizowano również parametry oczyszczania ekstraktów próbek, stosując adsorpcyjną chromatografię kolumnową. Opracowaną metodę poddano obszernym badaniom walidacyjnym.

Doświadczalnego napromieniania próbek mięśni (drób, bydło, świnia, łosoś) dokonano przy użyciu wysokoenergetycznych elektronów oraz promieniowania gamma  $^{60}\text{Co}$ , stosując dawki 1, 3 i 5 kGy. Biorąc pod uwagę dane dostępne w systemie RASFF, które dotyczyły nieprawidłowości związanych z utrwalaniem radiacyjnym żywności, przeprowadzono badania próbek produktów spożywczych, co do których zachodziło uzasadnione podejrzenie, że mogły zostać poddane irradacji niezgodnie z wymaganiami [2].

**Wyniki i omówienie:** We wszystkich próbkach poddanych doświadczalnej irradacji wykazano obecność 2-alkilocyklobutanonów, a stwierdzane stężenia zwiększały się wraz ze wzrostem pochłoniętej dawki przez napromieniane mięśnie. Nigdy natomiast nie obserwowano tych związków w równoległe analizowanych próbkach, których nie poddawano utrwalaniu radiacyjnemu. Wykazano w ten sposób, że 2-alkilocyklobutanony mogą być traktowane jako unikatowe produkty oddziaływania promieniowania jonizującego z tłuszczami żywności pochodzenia zwierzęcego.

W żadnej z analizowanych próbek, które mogły być potencjalnie napromienione, nie stwierdzono obecności 2-alkilocyklobutanonów. Negatywne wyniki tych analiz mogą być skutkiem ograniczonego liczbowo i terytorialnie zakresu badań bądź też zgodnym z przepisami postępowaniem producentów, którzy mają świadomość, że służby odpowiedzialne za bezpieczeństwo żywności mogą dysponować odpowiednimi narzędziami pozwalającymi na wykrycie prób nadużyć w stosowaniu promieniowania jonizującego do utrwalania środków spożywczych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Farkas J., 2006, Irradiation for better foods, Trends in Food Science & Technology, 17:4, 148–152.
- [2] RASFF, 2012. RASFF portal database, <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>.



## PORÓWNANIE CYTOTOKSYCZNOŚCI WYBRANYCH NITROIMIDAZOLI WOBEC KOMÓREK HEPATOMA – LUDZKIEJ (HEPG2) I SZCZURZEJ (FaO)

### COMPARISON OF SOME NITROIMIDAZOLES CYTOTOXICITY AGAINST HEPATOMA CELLS – HUMAN (HEPG2) AND RAT (FaO)

Lidia Radko, Maria Minta, Sylwia Stypuła-Trębas, Jan Żmudzki

Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: lidia.radko@piwet.pulawy.pl

Nitroimidazole należą do grupy chemioterapeutyków o szerokim zakresie działania stosowanych do leczenia infekcji bakteryjnych i pierwotniaczych u ludzi oraz zwierząt towarzyszących. Stosowanie tych leków u zwierząt rzeźnych jest zakazane ze względu na możliwość wystąpienia działań ubocznych przez udokumentowaną aktywność genotoksyczną oraz narażenie konsumentów na pozostałości (metabolity) tych leków w żywności (Aneks IV rozporządzenia EWG nr 2377/90).

**Cel pracy:** Ocena potencjału toksycznego metronidazolu (M), tinidazolu (T), ronidazolu (R) i ornidazolu (O) na ludzkich komórkach metabolizujących i porównanie ich aktywności opierające się na komórkach zwierzęcych (szczur).

**Materiał i metody:** Modele badawcze stanowiły hodowle komórek hepatoma: ludzkie – linia ciągła HepG2 (ATCC) i szczurze – linia ciągła FaO (ECACC). Badane leki rozpuszczano w DMSO. Z roztworu podstawowego sporządzano roztwory robocze (8 stężeń: 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50; 100; 200 µg/ml), wykorzystując do tego celu właściwe dla linii komórkowych podłoże hodowlane. Cytotoksyczność oceniano po 24, 48 i 72 h ekspozycji z użyciem 4 metod pozwalających na ocenę wpływu leków na: metabolizm komórkowy (test redukcji MTT); aktywność lizosomalną (test wychwytu NR); zdolność proliferacyjną (test comassie brillant blue, CBB) oraz integralność błony komórkowej (test uwalniania LDH z komórek do podłoża hodowlanego).

**Wyniki i omówienie:** Żywotność komórek wyrażona wartościami gęstości optycznej (OD) została obliczona w porównaniu z wartościami kontrolnymi, które przyjęto jako 100% i wyrażona jako średnia ± SD z trzech niezależnych doświadczeń.

Analiza krzywych dawka-odpowiedź wskazuje na niewielkie różnice w hamowaniu żywotności komórek eksponowanych na wzrastające stężenia badanych związków.

Toksyczność związków oparta na wartościach  $EC_{20}$  dla komórek HepG2 kształtuje się następująco: w teście MTT –  $R > O \geq T > M$  (po 48 h ekspozycji) i  $R > M > T > O$  (po 72 h); w teście NRU –  $R > O > M = T$  (po 72 h). Najwcześniejsze (po 24 h) oddziaływanie wykazał ronidazol ( $EC_{20} = 37,4 \pm 6,44$  µg/ml).

Toksyczność związków oparta na wartościach  $EC_{20}$  dla komórek FaO kształtuje się następująco: w teście MTT –  $M > T \geq R > O$  (po 48 h ekspozycji) i  $R > T \geq M \geq O$  (po 72 h). Najwcześniejsze (po 24 h) oddziaływanie wykazał tinidazol ( $EC_{20} = 41,4 \pm 4,93$  µg/ml).

W związku z niską aktywnością cytotoksyczną badanych związków nie określono średnich aktywnych stężeń –  $EC_{50}$ . Wyjątek stanowił ronidazol w badaniu na ludzkich komórkach HepG2. W przypadku tego związku udało się określić  $EC_{50}$ : w teście MTT – po 24 h ekspozycji ( $196 \pm 5,5$  µg/ml) i po 48 h ( $122 \pm 9,3$  µg/ml), a w teście NRU po 72 h ( $150 \pm 1,2$  µg/ml). W pozostałych przypadkach  $EC_{50}$  było wyższe od 200 µg/ml (najwyższe stężenie, jakie zastosowano w badaniach).

W piśmiennictwie brak jest badań z zakresu cytotoksyczności nitroimidazoli wobec komórek zwierzęcych. W jedynym dostępnym opracowaniu Ferreira i wsp. [1], obok innych antybiotyków, oceniali cytotoksyczność metronidazolu na ludzkich fibroblastach (FMM1). Żywotność komórek oceniana w teście MTT po 24, 48, 72 h ekspozycji na stężenie 5 µg/ml wynosiła odpowiednio: 71, 68 i 63%, w naszych – odpowiednio 91, 92 i 87% (dla HepG2) i 100, 91 i 93% (FaO). Uzyskane wyniki wskazują, że oceniane związki są mało toksyczne, a ich działanie odnosi się głównie do hamowania metabolizmu komórkowego (test redukcji MTT).

#### Piśmiennictwo:

- [1] Ferreira M.B., Myiagi S, Nogales C.G., Campos M.S., Lage-Marques J.L., 2010. Time – and concentration – dependent cytotoxicity of antibiotics used in endodontic therapy. J. Appl. Oral Sci., 18, 259–263.





## WPŁYW PODANIA CHLOROPYRYFOSU I ENROFLOKSACYNY NA ZAWARTOŚĆ WITAMINY A I E W WĄTROBIE SZCZURA

### THE EFFECT OF CHLORPYRIFOS AND ENROFLOXACIN ADMINISTRATION ON VITAMINS A AND E CONCENTRATION IN THE LIVER OF RATS

Anna Spodniewska, Dariusz Barski

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii i Toksykologii, ul. M. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, e-mail: anspod@uwm.edu.pl

Wyniki badań ostatnich lat wskazują, że wiele związków używanych w rolnictwie i medycynie weterynaryjnej (np. pestycydy i leki) wykazuje działanie prooksydacyjne. Organizmy żywe wykształciły swoistą barierę ochronną przed szkodliwym działaniem wolnych rodników. W skład tej bariery wchodzi liczne związki o właściwościach enzymatycznych oraz składniki nieenzymatyczne. Enzymatyczny system obrony stanowią przede wszystkim: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (CAT), peroksydaza glutationowa (GPx) i reduktaza glutationowa (GR), natomiast nieenzymatyczny, między innymi, glutation oraz witaminy A, E, C.

**Cel badań:** Określenie wpływu chloropiryfosu (pestycyd fosforoorganiczny) oraz enrofloksacyny (chemioterapeutyk antybakteryjny o szerokim spektrum działania), podawanych samodzielnie i w kombinacji, na zawartość witamin A i E w wątrobie szczurów.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na szczurach (samcach) szczepu Wistar o wyjściowej masie ciała 160–170 g. Wydzielono 3 grupy doświadczalne zwierząt (I–III) oraz grupę kontrolną (K), po 30 sztuk w każdej. Szczurom z grupy I podawano dożołądkowo sondą enrofloksacynę (w postaci preparatu Enflocyna SOL) w dawce 5 mg/kg m.c. przez 5 kolejnych dni, a z grupy II chloropiryfos w dawce 0,04 LD<sub>50</sub> (sondą dożołądkowo) przez 28 dni. Zwierzętom z grupy III aplikowano oba wymienione związki w sposób identyczny jak w grupie I i II. Grupa kontrolna szczurów otrzymywała paszę i wodę *ad libitum*. W wytypowanych okresach po intoksykacji (tj. po 3, 6, 24 godzinach oraz 3 i 7 dniach) zwierzęta uśmiercono przez dekapitację, a po przeprowadzeniu sekcji pobrano wątrobę do badań biochemicznych. Zawartość witaminy A i E w homogenatach wątroby oznaczano metodą wysokoprężnej chromatografii cieczowej (HPLC).

**Wyniki i omówienie:** Wykazano, że zawartość witaminy A i E w wątrobie szczurów intoksykowanych enrofloksacyną (gr. I) była nieznacznie podwyższona w stosunku do kontroli we wszystkich okresach badań. Stężenie wit. A było najwyższe w początkowym okresie badań, tj. po 3 i 6 godzinie i wynosiło odpowiednio: 12,3 i 13,6%, natomiast zawartość wit. E wzrastała stopniowo do 24 godziny po narażeniu, kiedy to obserwowany wzrost wynosił 10,1% w stosunku do kontroli. Chloropiryfos (gr. II) powodował obniżenie poziomu obu badanych witamin w wątrobie, z tym że w przypadku wit. E spadek ten był bardziej nasilony. Największe obniżenie stężenia wit. A wystąpiło po 24 godzinie (19,2%), a wit. E po 6 godzinie (23,2%). W grupie szczurów o mieszanej intoksykacji (gr. III) zmiany w analizowanych parametrach kształtowały się podobnie jak w grupie II zwierząt, narażonych wyłącznie na chloropiryfos.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że narażenie szczurów na enrofloksacynę i/lub chloropiryfos powodowało zmiany w zawartości witamin A i E w wątrobie. Zmiany te były bardziej nasilone po podaniu chloropiryfosu. Może to sugerować, że użyte w eksperymencie związki w zastosowanych dawkach powodują zaburzenia równowagi między procesami pro- i antyoksydacyjnymi.



## WPŁYW EKSTRAKTU Z ZIELA *CALTHA PALUSTRIS* L. (CP – FRAKCJA B) NA ODPOWIEDŹ HUMORALNĄ MYSZY IMMUNIZOWANYCH SRBC

### INFLUENCE OF *CALTHA PALUSTRIS* L. (CP – FRACTION B) HERB EXTRACT ON HUMORAL IMMUNE RESPONSE IN SRBC IMMUNIZED MICE

Agnieszka Suszko<sup>1</sup>, Magdalena Lis<sup>1</sup>, Marianna Szczypka<sup>1</sup>, Janina Kuduk-Jaworska<sup>2</sup>,  
Bożena Obmińska-Mrukowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biochemii, Farmakologii i Toksykologii, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: agnieszka.suszko@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Wrocławski, Wydział Chemii, Katedra Chemii

Obecnie pomimo szerokiego wachlarza dostępnych leków poszukuje się nowych substancji czynnych o lepszej skuteczności terapeutycznej i przede wszystkim mniejszej toksyczności. Alternatywą dla substancji syntetycznych są wyciągi roślinne stosowane w medycynie ludowej w terapii wielu schorzeń. Jedną z takich roślin jest *Caltha palustris* L. – kniec błotna, bylina rosnąca niemal w całej Europie, Azji i Ameryce Północnej, stosowana w leczeniu m.in. zapalenia stawów.

**Cel badań:** Określenie *in vivo* immunomodulującego działania ekstraktu otrzymanego z zieleń *Caltha palustris* L. – CP – frakcja B. Jest to frakcja polisacharydowa uzyskana w wyniku ekstrakcji suchego zieleń *Caltha palustris* L. przy użyciu 0,1 M NaOH przez zespół pracowników naukowych Katedry Chemii Uniwersytetu Wrocławskiego pod kierunkiem prof. dr hab. Janiny Kuduk-Jaworskiej. W testach *in vitro* (test aktywacji granulocytów, test aktywacji limfocytów, test aktywności proliferacyjnej limfocytów) stwierdzono, że badana frakcja (CP – frakcja B) wykazywała wysoką aktywność immunomodulującą.

**Materiał i metody:** Prezentowane badania wykonano na myszach szczepu wsobnego Balb/c, samicach, o wadze 20 g, w wieku 8 tygodni. Badany ekstrakt był podawany dootrzewnowo jednorazowo lub pięciokrotnie w odstępach 24-godzinnych w dawkach: 10, 1 i 0,1 mg/kg. Myszy poddano immunizacji antygenem grasiczozależnym, jakim są erytrocyty owcy (SRBC) w dawce  $4 \times 10^8$  SRBC/mysz (0,2 ml 10% zawiesiny SRBC i.p) 24 godziny po ostatnim podaniu badanego ekstraktu. Równolegle w każdym układzie doświadczalnym przeprowadzono badania kontrolne, w których w miejsce badanego preparatu podawano dootrzewnowo zbuforowany roztwór soli fizjologicznej (PBS) w objętości 0,2 ml/mysz. Grupy kontrolne i doświadczalne zawierały 7 myszy.

Czwartego dnia po immunizacji SRBC zostały określone: liczba splenocytów produkujących przeciwciała hemolityczne anty-SRBC (PFC-plaque forming cells) i miano hemaglutynin anty-SRBC.

**Wyniki i omówienie:** Po jednorazowym podaniu preparatu w dawce 10 mg/kg stwierdzono spadek liczby splenocytów produkujących przeciwciała hemolityczne anty-SRBC (PFC) w stosunku do grupy kontrolnej, natomiast po jednokrotnym podaniu dawki 0,1 mg/kg obserwowano wzrost liczby PFC. Zaobserwowano również wzrost miana hemaglutynin anty-SRBC całkowitych i miana surowicznych hemaglutynin opornych na 2-merkaptoetanol po jednorazowym podaniu ekstraktu w dawkach: 1 i 0,1 mg/kg. Z kolei w przypadku podania pięciokrotnego w dawce 10 mg/kg obserwowano spadek liczby PFC w stosunku do grupy kontrolnej w przeciwieństwie do dawki 0,1 mg/kg, gdzie zanotowano wzrost liczby PFC. Stwierdzono także, że badany ekstrakt podany pięciokrotnie w dawce 10 mg/kg zmniejszył miano surowicznych hemaglutynin opornych na 2-merkaptoetanol i miano hemaglutynin anty-SRBC całkowitych.

Podsumowując, wykazano immunomodulujący wpływ ekstraktu CP-frakcja B, w zależności od wielkości dawki i liczby kolejnych podań, na odpowiedź humoralną myszy immunizowanych SRBC.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kim H., Song M.J., 2011. Analysis and recordings of orally transmitted knowledge about medicinal plants in the southern montanious region of Korea. *J. Ethnopharmacol.*, 134, 76–693.
- [2] Gąsiorowski K., Brokos B., Kuduk-Jaworska J., Rułko F., 1994. Searching for imunologically active polysaccharides. Part II. Biological activity of polysaccharides fractions isolated from *Caltha palustris* L. *Herba Polonica*, 40, 180–187.





## POZIOMY DIOKSYN I PCB W MIĘSIE ZWIERZĄT ŁOWNYCH

### DIOXIN AND PCB LEVELS IN GAME MEAT

Małgorzata Warenik-Bany, Sebastian Maszewski, Łukasz Góraj, Jadwiga Piskorska-Pliszczyńska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Radiobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: malgorzata.warenik@piwet.pulawy.pl

Dioksyny (PCDD, PCDF) i polichlorowane bifenyle (PCB) należą do grupy trwałych zanieczyszczeń organicznych (TZO). Wszechobecność i właściwości fizykochemiczne powodują, że kontaminanty te kumulują się w poszczególnych ogniwach łańcucha żywnościowego. Tkanki pozyskane od zwierząt łownych (dzików, saren i jeleni) stanowią ważny produkt żywnościowy, szczególnie w domach rodzin związanych z myślistwem. W latach 2000–2009 stale rosła populacja zwierząt łownych na terenie kraju, rośnie też konsumpcja artykułów spożywczych z nich pozyskanych. W roku 2009 w Polsce żyło 7,5 tys. jeleni, 828 tys. saren i 251 tys. dzików [1]. Choć działanie dioksyn i PCB obecnych w środowisku nie jest spektakularne, to jednak ich toksyczny wpływ na organizm ludzi i zwierząt jest ogromny [2, 3].

**Cel badań:** Oszacowanie ryzyka związanego z wpływem dioksyn na zdrowie ludzi poprzez m.in. określenie ich zawartości oraz zawartości PCB w tkankach zwierząt wolno żyjących (dziki, sarny, jelenie), ponieważ wraz z żywnością statystyczny mieszkaniec Europy pobiera ponad 90% dziennej tolerowanej dawki dioksyn.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły mięśnie i wątroby dzików, saren oraz jeleni odławianych z terenu kraju. Do oznaczania 29 kongenerów PCDD, PCDF i dioksynopodobnych PCB (dl-PCB) oraz 6 niedioksynopodobnych PCB (ndl-PCB) zastosowano metodę uznawaną za „złoty standard” – kapilarną chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas wysokiej rozdzielczości (HRGC-HRMS) z wykorzystaniem metody rozcieńczeń izotopowych.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki świadczą o wysokiej zawartości dioksyn i PCB w tkankach zwierząt łownych. Średnie stężenie sumy dioksyn i dioksynopodobnych PCB w tkance mięśniowej saren i jeleni wynosiło  $3,76 \pm 1,74$  pg WHO-TEQ/g tłuszczu. W przypadku dzików średnie stężenie sumy PCDD/PCDF/dl-PCB wynosiło  $1,14 \pm 0,70$  pg WHO-TEQ/g tłuszczu. Ustawodawstwo międzynarodowe i krajowe nie określa najwyższych dopuszczalnych poziomów tych związków w tkankach zwierząt łownych, jednak otrzymane wyniki można odnieść do limitów ustanowionych dla bydła i owiec (w przypadku jeleniowatych) oraz świń (w przypadku dzików). Najwyższy dopuszczalny poziom sumy PCDD/PCDF/dl-PCB w mięsie i produktach mięsnych bydła i owiec wynosi 4,0 pg WHO-TEQ/g tłuszczu [4], a w mięsie i produktach mięsnych ze świń 1,25 pg WHO-TEQ/g tłuszczu. Dziki i jeleniowate kumulują bardzo duże ilości dioksyn i PCB w wątrobie, przekraczające kilkadziesiąt razy dopuszczalną zawartość w tkankach zwierząt konsumpcyjnych. Stwierdzono, że w wątrobie saren pochodzących z okolic Bogatyni stężenie sumy PCDD/PCDF/dl-PCB wynosiło od  $67,87 \pm 12,79$  do  $183,08 \pm 34,51$  pg WHO-TEQ/g tłuszczu. W wątrobach dzików pochodzących z tego samego rejonu stężenie sumy PCDD/PCDF/dl-PCB wynosiło od  $8,21 \pm 1,51$  do  $27,07 \pm 5,10$  pg WHO-TEQ/g tłuszczu. Dopuszczalny poziom dioksyn i dl-PCB w wątrobie zwierząt hodowlanych to 10,0 pg WHO-TEQ/g tłuszczu. Na podstawie wstępnych wyników prowadzonych badań można stwierdzić, że dioksyny i związki pokrewne konsumowane wraz z żywnością z dzikich zwierząt stanowią znaczny wkład w codzienną dawkę tych związków i dla konsumentów dużej ilości dziczyzny mogą stanowić potencjalne zagrożenie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Rocznik statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej 2010, GUS, 525.
- [2] Piskorska-Pliszczyńska J., 1999, Dioksyny i związane z nimi zagrożenia zdrowia. Med. Wet., 55:8, 491–496.
- [3] Schecter A., Brinbaum L., Ryan J.J., Constable J.D., 2006. Dioxins: an overview, Environmental Research, 101:3, 419–428.
- [4] Rozporządzenie Komisji (UE) nr 1259/2011, Dz.U. L 320 z 3.12.2011, s. 210.

Badania wykonano w ramach projektu badawczo-rozwojowego NCBiR nr 12-0127.



## ZATRUCIE PSA CHLORALOZĄ – OPIS PRZYPADKU

## CHLORALOSE INTOXICATION IN DOG – THE CLINICAL CASE

Monika Wojciechowski<sup>1</sup>, Iwona Wolska-Szabała<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, Zakład Toksykologii i Ochrony Środowiska, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin,

<sup>2</sup>Lecznica dla Zwierząt, ul. Wojska Polskiego 33, 21-040 Świdnik, e-mail: monika.wojciechowski@up.lublin.pl

Chloraloza jest stosowana jako rodenticyd, środek do chwytania lub poskramiania ptaków oraz jako środek znieczulający, najczęściej u zwierząt laboratoryjnych. Substancja ta może działać hamująco lub pobudzająco na centralny układ nerwowy, powodując sedację i znieczulenie albo spontaniczne ruchy miokloniczne i uogólnione drgawki kloniczne. Efekt anestetyczny chloralozy porównywany jest do działania wodzianu chloralu, natomiast efekt pobudzający przypomina objawy występujące po zatruciu strychniną.

W opracowaniu przedstawiono przebieg kliniczny zatrucia psa chloralozą.

**Opis przypadku:** Suka rasy american staffordshire terier została przyprawiona do przychodni z objawami wymiotów i biegunki. Z wywiadu wynikało, że pies zjadł całą zawartość opakowania o pojemności 120 ml preparatu BROS 10GB – granulatu dla kretów (zawiera chloralozę w stężeniu 10%). Ciężkość ciała wynosiła 36,5°C, w trakcie omacywania stwierdzono niewielką bolesność brzucha. U zwierzęcia występowały ślinotok, niezdolność ruchowa, skurcze toniczno-kloniczne, brak reakcji na ból oraz duszność i kaszel. Obliczono, że rzeczywista dawka chloralozy zjedzona przez psa wynosiła 480 mg/kg m.c. (minimalna dawka śmiertelna chloralozy u psów to 600–1000 mg/kg m.c.). Wobec braku odtrutki dla chloralozy zastosowano leczenie objawowe. W celu zniesienia objawów silnego pobudzenia układu nerwowego i drgawek zwierzęciu podano Relanium w dawce 0,25–1 mg/kg m.c. *i.v.* Nie uzyskano jednak oczekiwanego efektu przeciwdrgawkowego. Psu podano siarczan atropiny w dawce 0,05 mg/kg m.c. *i.m.*, Sedazin w dawce 0,15 ml/kg m.c. *i.m.*, płyn Ringera w dawce 2–10 ml/kg m.c., 5 % roztwór glukozy w dawce 2–20 ml/kg m.c. w wolnym wlewie dożylnym oraz furosemid w dawce 2–4 mg/kg m.c. *i.v.* Przy kolejnym pomiarze ciężkość ciała spadła poniżej 35°C. Zastosowano ogrzewanie powierzchni ciała oraz ograniczono do minimum stymulację bodźcami zewnętrznymi. Po upływie 24 godzin od rozpoczęcia leczenia u zwierzęcia wystąpiła całkowita poprawa stanu zdrowia i pacjent został wypisany do domu w stanie ogólnym dobrym.

**Omówienie:** Sposób działania chloralozy zależy od dawki – przy dawkach mniejszych dochodzi zazwyczaj do pobudzenia, a przy większych do depresji centralnego układu nerwowego, dlatego zatrucie chloralozą powinno być brane pod uwagę zarówno u pacjentów w stanie śpiączki jak i w przypadku drgawek. Zatrucie chloralozą może manifestować się podnieceniem, uogólnionymi konwulsjami, depresją, niezdolnością ruchową, oczopląsem, ślepotą, agresją, osłabieniem odruchów, ślinotokiem, spłycaeniem oddechów oraz objawami żołądkowo-jelitowymi. Częstym objawem jest hipotermia. W rozpoznaniu różnicowym zatrucia chloralozą powinno się uwzględnić inne toksyny działające na ośrodkowy układ nerwowy. W laboratoryjnej diagnostyce toksykologicznej stosuje się metody chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (GC-MS). Przyżyciowo od pacjentów podejrzanych o zatrucie do badań laboratoryjnych pobiera się próbki krwi i moczu. Najważniejszą rolę w terapii odgrywa leczenie podtrzymujące i objawowe. W leczeniu drgawek najczęściej stosuje się benzodiazepiny lub barbiturany, pojedynczo lub w kombinacji. W ciężkich przypadkach, przy braku odpowiedzi na te leki, stosuje się znieczulenie ogólne. Pomimo ciężkiego i gwałtownego przebiegu zatrucia chloralozą śmiertelność jest niska i wynosi kilka procent. Do śmierci dochodzi zazwyczaj na skutek niewydolności układu oddechowego. Dlatego rokowanie jest zazwyczaj pomyślne przy założeniu, że pomoc lekarsko-weterynaryjna została udzielona w odpowiednim czasie.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Ballis G.U. Monroe R.R., 1964. The Pharmacology of chloralose. *Psychopharmacologia*, 6, 1–30.
- [2] Kintz P., Jamey C., Mangin P., 1996. Trichloroethanol is not a metabolite of alpha chloralose. *Int. J. Legal Med.*, 108, 191–193.
- [3] Segev G., Yas-Natan E., Shlosberg A., Aroch I., 2006. Alpha-chloralose poisoning in dogs and cats: A retrospective study of 33 canine and 13 feline confirmed cases. *Vet. J.*, 172, 109–113.
- [4] Thomas H.M., Simpson D., Prescott L.F., 1988. The toxic effects of alpha-chloralose. *Hum. Toxicol.*, 7, 285–287.



## MELATONINA JAKO LEK PRZECIWLĘKOWY U PSÓW I KOTÓW (OBSERWACJE WŁASNE)

### MELATONIN AS AN ANXIOLYTIC DRUG IN DOGS AND CATS (OWN OBSERVATIONS)

Rafał Zań, Cezary Kowalski, Zbigniew Roliński

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, Zakład Farmakologii, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin, e-mail: rafal.zan@up.lublin.pl

Melatonina (N-acetylo-5-metoksytryptamina, MT) jest indolową pochodną tryptofanu, która uczestniczy w wielu fizjologicznych i behawioralnych procesach, takich jak regulacja cyklu dobowego, snu, nastroju, procesów rozrodu, odpowiedzi immunologicznej i zjawisku starzenia.

Dotychczasowe obserwacje prowadzone u ludzi wykazały, że dobowe i sezonowe zmiany w poziomach MT prowadzą do zakłóceń procesu snu, bezsenności oraz afektywnych zaburzeń, opisanych jako stany depresji, występujące najczęściej w okresie zimy.

W stanach stresu i zaburzeniach nerwicowych występujących często u psów i kotów pojawiają się stany lękowe prowadzące do zaburzeń snu i bezsenności. Typowym przykładem takiego stanu niepokoju u psów jest bezsenność z powodu wyładowań atmosferycznych, stosowania fajerwerków lub separacji od właściciela, przebiegająca z głośną, długotrwałe utrzymującą się wokalizacją.

Liczba zwierząt towarzyszących człowiekowi (przede wszystkim psy i koty) stale wzrasta zarówno na całym świecie, jak i w Polsce, co stwarza konieczność poszukiwania nowych leków wpływających na anormalne zachowanie tych zwierząt w postaci niepokoju i lęku i towarzyszącą im bezsennością. Stany takie są uciążliwe dla właścicieli i ich sąsiadów, zwłaszcza w warunkach wielkomiejskich. Zwiększenie asortymentu leków, które mogą wpływać na anormalne zachowanie zwierząt, o melatoninę powinno poprawić ich dobrostan w różnych stanach stresu oraz zwiększyć komfort psychiczny ich właścicieli, a także ludzi z ich najbliższego sąsiedztwa. Można zakładać, że melatonina będzie również przydatna, jak u ludzi, u psów w zaburzeniach snu związanych z przekraczaniem stref czasowych podczas długotrwałych podróży.

**Materiał i metody:** Psy do badań klinicznych pochodzą z przypadków zgłaszanych do Klinik Wydziału Weterynaryjnego, Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie oraz przypadków z wybranych, współpracujących, prywatnych Przychodni Weterynaryjnych z terenu województwa lubelskiego i świętokrzyskiego. W badaniach użyto syntetycznego analogu MT – tabletki a 1 mg, 3 mg, 5 mg, Melatonina – LEK-AM.

**Wyniki i omówienie:** Dotychczas przeprowadzone obserwacje nad klinicznym zastosowaniem MT wykazały skuteczność analogu MT w przypadkach lęku związanego z wyładowaniami atmosferycznymi w czasie burzy oraz odgłosami wystrzałów, objawach nadmiernej (dokuczliwej) aktywności nocnej lub lęku związanego z pozostawianiem zwierzęcia samego w domu (5 kotów i 2 psy), a także niepokoju spowodowanego podróżą. Ponadto zaobserwowano jej skuteczność u jednego psa oraz kota w przypadku nocnych napadów drgawkowych, a także przy nadpobudliwości samic po zabiegu kastracji (6 suk i 3 kotki).

#### Piśmiennictwo:

- [1] Aronson L., 1999. Animal behavior case of the month. JAVMA, 215, 22–24.
- [2] Dollins A.B., Zhdanova I.V., Wurtman R.J., 1994. Effect of inducing nocturnal serum melatonin concentrations in daytime on sleep, mood, body temperature, and performance. Proc. Natl. Acad. Sci., 91, 1824–1828.
- [3] Zań R., Roliński Z., Kowalski C., Burmańczuk A., Polska B., Melatonina, jej właściwości biologiczne i możliwe zastosowania kliniczne u ludzi oraz zwierząt. Życie Wet. 2011, 86, 225–228.
- [4] Zań R., Roliński Z., Kowalski C., Duda M., 2011. Czy melatonina jest niezbędna również dla zwierząt? Magazyn Wet. 20, 251–253.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2009–2012 jako projekt badawczy (projekt nr N N308 386137).



## OPTYMALIZACJA METODY OZNACZANIA AMOKSYCYLINY W OSOCZU BYDŁA METODĄ WYSOKO SPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

### METHOD OPTIMIZATION FOR THE DETERMINATION OF AMOXICILIN IN BOVINE PLASMA USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGGRAPHY

Hubert Ziółkowski, Agnieszka Jasiecka, Magda Zdanowicz, Jerzy Jan Jaroszewski

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii i Toksykologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: hazetman@interia.pl

Amoksycylina jest antybiotykiem wchodzącym w skład tzw. penicylin półsyntetycznych należącym do grupy aminopenicylin. Poprzez dodanie łańcuchów bocznych do podstawowej struktury penicylin, jaką jest kwas 6-aminopenicylanowy, amoksycylina zwiększyła spektrum bakterioobójcze obejmujące zarówno bakterie Gram-dodatnie, jak również Gram-ujemne (m.in. *E. coli*, *H. influenzae*, *P. mirabilis*). Jest to lek, który znajduje powszechne zastosowanie w medycynie weterynaryjnej w preparatach zarejestrowanych dla zwierząt gospodarskich jak i towarzyszących.

Z racji rutynowego stosowania metody ekstrakcji do fazy stałej (SPE), która jest zdecydowanie kosztowniejsza, celem podjętych badań było opracowanie równie czułej, szybkiej, skutecznej ale i relatywnie niedrożej metody oznaczania amoksycyliny w osoczu bydła przy zastosowaniu ekstrakcji ciecz-ciecz (LLE).

**Materiał i metody:** Za materiał do badań posłużyło osocze bydła uzyskane z krwi pobranej od klinicznie zdrowych zwierząt. Optymalizacja metody oznaczania amoksycyliny została wykonana w dwóch etapach. Pierwszym było dobranie odpowiednich warunków chromatograficznych takich jak: rodzaj kolumny, temperatura, faza ruchoma, wielkość i rodzaj przepływu, ilość nastrzykiwanego analitu, odpowiednia długość fali oraz czas retencji. Drugim etapem była optymalizacja ekstrakcji poszukiwanego leku, w której to metodzie posłużono się LLE. Oznaczenia przeprowadzono na wysoko sprawnym chromatografie cieczowym (HPLC) Agilent 1100 series sprzężonym z detektorem diodowym pracującym w trybie UV.

**Wyniki i omówienie:** Z przeprowadzonych doświadczeń uzyskano wyniki, które umożliwiły dobór jak najkorzystniejszych warunków analizy. Spośród zastosowanych kolumn (XBridge Phenyl, XBridge C18, Waters SunFire C18, Acquity UPLC T3, Agilent Eclipse) najoptymalniejszy rozdział uzyskano na kolumnie Merck LiChroSpher RP-C8 4,0/250 mm, 5 µm pracującej w temperaturze 35°C na której osiągnięto zakładaną czułość (100 ng/ml) oraz rozdział poszczególnych składowych matrycy biologicznej wraz z analitem. Najkorzystniejsze warunki uzyskano przy przepływie gradientowym rzędu 0,9 ml/min, gdzie fazą ruchomą A była mieszanina: 5% acetonitrylu (ACN) i 95% buforu fosforanowego (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), a fazą B była mieszanina: 50% ACN i 50% KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Ustalono ponadto, że najlepsza wykrywalność amoksycyliny występowała przy długości fali λ=240 nm, w objętości nastrzyku 7 µl, a czas retencji wynosił 4,5 min (gdzie całkowity czas analizy osiągnął 15 min). Spośród ocenianych ekstrahentów najlepsze wyniki uzyskano dla octanu etylu, który umożliwił 100% odzysk badanego analitu z osocza. Prezentowana metoda umożliwiła czułą, szybką, skuteczną oraz relatywnie niedrogą analizę amoksycyliny w osoczu bydła, dzięki czemu może stanowić ona alternatywę dla obecnie powszechnie stosowanych metod SPE.





## OPTIMALIZACJA METODY OZNACZANIA ENROFLOKSACYN, CIPROFLOKSACYN ORAZ NORFLOKSACYN W OSOCZU KURCZĄT BROJLERÓW METODĄ WYSOKO SPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

### METHOD OPTIMIZATION FOR THE DETERMINATION OF ENROFLOXACIN, CIPROFLOXACIN AND NORFLOXACIN IN BROILER CHICKEN PLASMA USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOPGRAPHY

Hubert Ziółkowski, Agnieszka Jasiecka, Tomasz Maślanka, Natalia Śliwka, Karolina Przychodzeń, Jerzy Jan Jaroszewski

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii i Toksykologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: hazetman@interia.pl

Enrofloksacyna, ciprofloksacyna i norfloksacyna są to chemioterapeutyki przeciwdrobnoustrojowe należące do grupy chinolonów III generacji. Modyfikacja chemiczna prowadząca do otrzymania wyżej wymienionych substancji znacznie zwiększyła ich spektrum działania, które obejmuje drobnoustroje Gram-dodatnie, Gram-ujemne, *Mycoplasma*, *Chlamydia* oraz *Rickettsia*, natomiast bakterie beztlenowe, jak również paciorkowce są słabo lub w ogóle nie są wrażliwe na te leki. Chinolony te są szeroko stosowane w medycynie weterynaryjnej zarówno w leczeniu zwierząt gospodarskich (bydło, trzoda chlewna, drób grzebiący), jak i zwierząt towarzyszących (psy, koty, gołębie niekonsumpcyjne), ponadto ciprofloksacyna stosowana jest z powodzeniem w medycynie ludzkiej w przypadku schorzeń dróg moczowych.

**Cel pracy:** Zoptymalizowanie istniejących metod w taki sposób, by wszystkie trzy chinolony były ekstrahowane w identyczny sposób, w jednakowych warunkach chromatograficznych.

**Materiał i metody:** Za materiał do badań posłużyło osocze kurcząt brojlerów uzyskane z krwi pobranej od klinicznie zdrowych ptaków. Optymalizacja metody oznaczania enrofloksacyny, ciprofloksacyny i norfloksacyny została wykonana w dwóch etapach. Pierwszym było dobranie odpowiednich warunków chromatograficznych takich jak: rodzaj kolumny, temperatura, faza ruchoma, wielkość i rodzaj przepływu, ilość nastrzykiwanego analitu, odpowiednia długość fali wzbudzającej i emisyjnej, oraz czas retencji. Drugi etap to optymalizacja fazy ekstrakcji ciecz – ciecz (LLE) poszukiwanego leku. Oznaczenia przeprowadzono na wysoko sprawnym chromatografie cieczowym (HPLC) Agilent 1100 Series sprzężonym z detektorem fluorescencyjnym.

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone doświadczenia umożliwiły osiągnięcie zakładanych celów, aczkolwiek podczas analizy norfloksacyny konieczne było zastosowanie odmiennej fazy ruchomej. Spośród zastosowanych kolumn (Agilent Eclipse, XBridge C18, Waters XTerra C18, Phenomenex Gemini) najoptymalniejszy rozdział uzyskano na kolumnie Phenomenex Gemini C18 3,0/150 mm, 3 μm, pracującej w temperaturze 35°C, na której osiągnięto zakładaną czułość (100 ng/ml dla enro i ciprofloksacyny, oraz 30 ng dla norfloksacyny). Najkorzystniejsze warunki uzyskano przy przepływie gradientowym rzędu 0,5 ml/min oraz objętości analitu 2 μl, gdzie fazą ruchomą A dla cipro i enrofloksacyny była mieszanina 8 części 0,05M octanu amonu ( $\text{CH}_3\text{COONH}_2$ ) i 2 części acetonitrylu (ACN) w stosunku objętościowym (v/v), natomiast fazą B była ta sama mieszanina w odwrotnej proporcji. Dla norfloksacyny ze względu na trudniejszy rozdział poszczególnych składników matrycy proporcja fazy A była następująca: 8,25 części  $\text{CH}_3\text{COONH}_2$  i 1,75 części ACN. Dla enro- i norfloksacyny fala wzbudzająca o długości 300 nm i fala emisyjna o długości 448 nm były najoptymalniejsze, z kolei dla ciprofloksacyny poszczególne wartości długości fal wynosiły odpowiednio 280 i 453 nm. Dla wszystkich chinolonów za standard wewnętrzny (IS) posłużył kwas antranilowy, który sprawdził się we wszystkich warunkach analitycznych. Spośród ekstrahentów najlepszym okazał się 1,2-dichloroetan, który umożliwił odzysk rzędu 90% wszystkich substancji. Zaprezentowana metoda umożliwia bardzo szybko, czułą i uniwersalną analizę fluorowanych chinolonów, dzięki której badanie poziomu tych substancji w osoczu kurcząt nie stanowi problemu.



## WYSTĘPOWANIE TETRACYKLIN W TKANKACH I PRODUKTACH POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO – PRZYCZYNY I SKUTKI

### TETRACYCLINES OCCURRENCE IN TISSUES AND FOOD OF ANIMAL ORIGIN – CAUSES AND CONSEQUENCES

Anna Gajda, Andrzej Posytniak

*Zakład Farmakologii i Toksykologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,  
Al. Partyzantów 57, 24-100-Puławy, e-mail:anna.gajda@piwet.pulawy.pl*

Tetracykliny (oksytetracyklina – OTC, chlorotetracyklina – CTC, tetracyklina – TC i doksycyklina – DC) są klasycznymi antybiotykami, które znalazły szerokie zastosowanie w leczeniu i zapobieganiu chorobom bakteryjnych występujących u zwierząt, których produkty przeznaczone są do konsumpcji przez ludzi. Pozostałości tetracyklin występując w produktach spożywczych zwierzęcego pochodzenia, mogą negatywnie oddziaływać na zdrowie konsumentów poprzez możliwość wywoływania reakcji alergicznych, uszkodzeń wątroby i zaburzeń żołądkowo-jelitowych. Mając na względzie zdrowie konsumentów, Komisja Europejska ustaliła maksymalne limity pozostałości (MRL) dla tetracyklin i ewentualnych produktów ich rozkładu (epimerów) w mięśniach w stężeniu 100 µg/kg, w wątrobie – 300 µg/kg, w nerkach – 600 µg/kg, w mleku – 100 µg/kg i w jajach – 200 µg/kg (dla doksycykliny dotychczas nie wyznaczono MRL dla jaj i mleka).

**Cel pracy:** Przedstawienie powodów występowania tetracyklin w żywności, konsekwencji wynikających z ich nadmiernego stosowania, a także wyników badań kontrolnych pozostałości tych związków w produktach pochodzenia zwierzęcego.

**Materiał i metody:** Do wstępnych analiz obecności tetracyklin w próbkach materiału biologicznego zastosowano technikę chromatografii cieczowej z detektorem UV, natomiast w badaniach potwierdzających wykorzystano wysoce selektywną technikę spektrometrii mas z użyciem detektora mas. Opracowane procedury badawcze zostały zwalidowane zgodnie z zaleceniami regulacji unijnej 2002/657/EC (1). Materiał do badań stanowiły próbki mięśni drobiowych, wieprzowych, wołowych a także mleka, jaj, miodu pobierane w ramach Krajowego Programu Badań Kontrolnych Pozostałości Chemicznych prowadzonego w PIWet-PIB w Puławach.

**Wyniki i omówienie:** Podczas badań kontrolnych wykonuje się corocznie około 28 tysięcy badań. Spośród antybiotyków z grupy B1 największy odsetek próbek niezgodnych stanowiły próbki, w których stwierdzono obecność tetracyklin. Jako przyczynę występowania niezgodnych stężeń tetracyklin należy przyjąć nieprzeznaczane lub niewłaściwie ustalone czasy karencji. Należy również zwrócić uwagę, że na czas pozostawiania leków w organizmie zwierzęcym istotny wpływ mogą mieć także stan chorobowy oraz jednoczesne podawanie innych leków i różnych dodatków paszowych. Wykrywanie tetracyklin w tkankach zwierzęcych może być również związane z ich absorpcją i dystrybucją w organizmie, gdyż są one absorbowane z jelita w dużych ilościach w przeciwieństwie do innych antybiotyków, których wchłanianie jest ograniczone.

Nieracjonalne stosowanie antybiotyków u zwierząt może prowadzić do pojawiania się opornych szczepów bakteryjnych, co stanowi przyczynę niepowodzeń terapii antybiotykowej u ludzi. Ponadto pozostałości leków weterynaryjnych w żywności mogą negatywnie wpływać na zdrowie konsumentów, dlatego też badania kontrolne są niezwykle ważne dla zapewnienia bezpiecznej żywności.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Anon.: Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning.
- [2] Oka H., Ito Y., Matsumoto H.: Chromatographic analysis of tetracycline antibiotics in foods. J. Chromatogr. A 2000, 882, 109–133.





## WPŁYW DEKSAMETAZONU I MELOKSYKAMU NA ODSETEK I LICZBĘ BEZWZGLĘDNĄ KOMÓREK NK ORAZ KOMÓREK WYBRANYCH SUBPOPULACJI LIMFOCYTÓW T BYDŁA – BADANIA *IN VIVO*

### INFLUENCE OF DEXAMETHASONE AND MELOXICAM ON THE RELATIVE AND ABSOLUTE NUMBERS OF BOVINE NK CELLS AND LYMPHOCYTES OF SELECTED T CELL SUBSETS: AN *IN VIVO* STUDY

Tomasz Maślanka, Jerzy Jan Jaroszewski, Włodzimierz Markiewicz, Hubert Ziółkowski, Agnieszka Jasiecka

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii i Toksykologii, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn, e-mail: tomasz.maslanka@uwm.edu.pl

Deksametazon i meloksykam to substancje należące, odpowiednio, do steroidowych i niesteroidowych leków przeciwzapalnych. Oba te leki odgrywają znaczącą rolę w farmakoterapii chorób bydła, przy czym ich wpływ na limfocyty tego gatunku jest stosunkowo słabo poznany. Z uwagi na to celem podjętych badań było ustalenie oddziaływania deksametazonu i meloksykamu na odsetek i liczbę bezwzględną komórek NK oraz komórek wybranych subpopulacji limfocytów T bydła.

**Materiał i metody:** Doświadczenia przeprowadzono na 12-miesięcznych jałówkach rasy polska białoczarna. Zwierzętom pierwszej grupy eksperymentalnej (n=8) podano jednokrotnie deksametazon w zalecanej dawce (0.06 mg/kg) w preparacie o przedłużonym czasie działania (Dexafort, Intervet International B.V.). Zwierzęta drugiej grupy doświadczalnej (n=8) otrzymały dwukrotnie (w odstępie 72 godz.) meloksykam (Metacam, Boehringer Ingelheim Vetmedica) w zalecanej dawce (0,5 mg/kg). Grupę kontrolną (n=8) stanowiły zwierzęta, które nie otrzymały żadnego leku. Próbkę krwi kolekcjonowane były bezpośrednio przed podaniem leków (dzień 0.) oraz na 1., 3. i 7. dzień po ich aplikacji. Po usunięciu erytrocytów z próbek krwi zawiesinę komórek znakowano zewnątrzkomórkowo, a następnie wewnątrzkomórkowo odpowiednimi kombinacjami przeciwciał sprzężonych z fluorochromami (1:FITC/anty-CD4 + PE/anty-CD25 + AF647/anty-Foxp3; 2:FITC/anty-CD8 + PE/anty-CD25 + AF647/anty-Foxp3; 3:FITC/anty-WC1 + PE/anty-CD25; 4:AF488/anty-CD335, Serotec) i poddawano analizie cytometrycznej (FACSCanto II, BD Biosciences).

**Wyniki i omówienie:** Stwierdzono, że podanie deksametazonu wywołało trwałe (dzień 1., 3. i 7.) zwiększenie odsetkowej i bezwzględnej liczby komórek CD25<sup>high</sup>CD4<sup>+</sup>, czemu towarzyszyło przejściowe (dzień 1.) zmniejszenie bezwzględnej liczby limfocytów CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup>. Wykazano ponadto, że lek znacząco redukował (dzień 1. i 3.) odsetek komórek Foxp3<sup>+</sup> w obrębie limfocytów CD25<sup>high</sup>CD4<sup>+</sup>. W zakresie oceny wpływu deksametazonu na limfocyty CD8<sup>+</sup> i WC1<sup>+</sup> stwierdzono, że lek powodował trwałe (dzień 1., 3. i 7.) ubytek komórek CD25<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> i CD25<sup>-</sup>WC1<sup>+</sup>, ale przejściowy wzrost liczby względnej i bezwzględnej limfocytów CD25<sup>high</sup>CD8<sup>+</sup> (dzień 3) i CD25<sup>high</sup>WC1<sup>+</sup> (dzień 1. i 3.); nie stwierdzono wpływu leku na ekspresję Foxp3<sup>+</sup> w obrębie komórek CD25<sup>high</sup>CD8<sup>+</sup> i CD25<sup>low</sup>CD8<sup>+</sup>. Wykazano ponadto, że deksametazon indukował znaczącą utratę (dzień 3. i 7.) komórek NK. W zakresie oceny wpływu meloksykamu na badane limfocyty stwierdzono, że podanie leku redukowało odsetek i liczbę bezwzględną komórek CD25<sup>high</sup> należących do subpopulacji limfocytów WC1<sup>+</sup> (dzień 3.) i CD4<sup>+</sup> (dzień 1. i 7.). Z uwagi na to ostatnie zjawisko indukowany meloksykadem wzrost odsetka komórek Foxp3<sup>+</sup> (dzień 1. i 7.) w obrębie subpopulacji CD25<sup>high</sup>CD4<sup>+</sup> nie przekładał się na wzrost liczby bezwzględnej limfocytów o fenotypie Foxp3<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>CD4<sup>+</sup>. Nie stwierdzono wpływu meloksykamu na liczbę komórek z ocenianych subpopulacji limfocytów CD8<sup>+</sup>, jakkolwiek dosyć nieoczekiwanie zanotowano znaczący wzrost liczby bezwzględnej komórek NK na 7. dzień po pierwszej dawce leku. Uzyskane wyniki wskazują, że wpływ deksametazonu na liczebności limfocytów T CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> i WC1<sup>+</sup> pozostaje w ścisłym związku z obecnością cząsteczki CD25 na powierzchni tych komórek: lek preferencyjnie powoduje ubytek komórek CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> i CD25<sup>-</sup>WC1<sup>+</sup>, podczas gdy nie wpływa na liczbę bezwzględną limfocytów CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> i WC1<sup>+</sup> wykazujących ekspresję cząsteczki CD25 bądź zwiększa liczbę tych komórek. W porównaniu z deksametazonem – meloksykam w stosunkowo niewielkim stopniu ingeruje w liczebność limfocytów T bydła, a co więcej, uzyskane wyniki wskazują, że lek ten zwiększa liczbę bezwzględną komórek NK. Tym samym pod względem ocenianych parametrów immunologicznych meloksykam wydaje się być relatywnie bezpiecznym lekiem przeciwzapalnym do stosowania u bydła w przebiegu chorób o charakterze zakaźnym.



## WPŁYW KWASU ACETYLOSALICYLOWEGO I SALICYLANU SODU NA OBRAZ BIAŁOKRWINKOWY KRWI OBWODOWEJ KURCZĄT W WARUNKACH DZIAŁANIA ENDOTOKSYNY BAKTERYJNEJ (LIPOPOLISACHARYDU Z *E. COLI*).

### EFFECTS OF ACETYLSALICYLIC ACID AND SODIUM SALICYLATE ON BLOOD LEUKOCYTE POPULATIONS IN CHICKENS TREATED WITH *E. COLI* LIPOPOLYSACCHARIDE

Błażej Poźniak<sup>1</sup>, Marcin Światała<sup>1</sup>, Jine Yi<sup>2</sup>, Agnieszka Suszko<sup>1</sup>, Magdalena Lis<sup>1</sup>, Aleksandra Pawlak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biochemii, Farmakologii i Toksykologii, Zakład Farmakologii i Toksykologii, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław

<sup>2</sup>Veterinary College, Hunan Agricultural University, Furong District Changsha City, Hunan, P.R. China 410128

**Wstęp:** Kwas acetylosalicylowy (ASA) i salicylan sodu (SS) są powszechnie stosowane w leczeniu drobiu ze względu na ich właściwości przeciwzapalne, przeciwgorączkowe i przeciwbólowe. Większość farmakologicznych efektów działania salicylanów związana jest z hamowaniem syntezy prostanoidów przez cyklo-oxygenazę (COX), ale opisano również inne, niezależne od COX mechanizmy. Wykazano wpływ tych leków na szereg czynników transkrypcyjnych, a także hamujący wpływ na syntezę cytokin przez ludzkie limfocyty T [1], co wskazuje na potencjalne immunomodulacyjne działanie salicylanów.

**Cel badania:** Określenie, czy wielokrotne podawanie ASA lub SS wpływa na zmiany w kształtowaniu się populacji leukocytów krwi obwodowej kurcząt wywołane podaniem lipopolisacharydu (LPS) *E. coli*.

**Materiał i metody:** Do badania użyto 42 kurcząt broilery o masie 1 kg, które podzielono na 6 grup: 1) kontrolna; 2) grupa otrzymująca doustnie SS; 3) grupa otrzymująca doustnie ASA; 4) grupa, która otrzymała LPS; 5) grupa, która otrzymała LPS i SS (LPS+SS), 6) grupa, która otrzymała LPS i ASA (LPS+ASA). ASA i SS podawano w żelu skrobiowym codziennie przez 7 dni do wola w dawce 50 mg/kg, LPS podano dożylnie jednorazowo pierwszego dnia w dawce 1 mg/kg. Dnia 4. i 7. od kurcząt pobrano krew w celu oznaczenia liczby białych krwinek (WBC) i leukogramu, a także cytometrycznej analizy z zastosowaniem znakowanych przeciwciał monoklonalnych, proporcji między subpopulacjami limfocytów B (Bu-1a+) oraz T (CD3+, CD4+, CD8+, TCR $\gamma\delta$ +). W ostatnim dniu doświadczenia kurczęta poddano eutanazji i sekcyjnie oznaczono indeksy wagowe narządów limfatycznych.

**Wyniki:** Obserwowano silny wzrost WBC we wszystkich grupach, które otrzymały LPS, przy czym nie stwierdzono wyraźnego wpływu badanych leków na ten parametr. Stwierdzono natomiast niewielki spadek stosunku heterofili do komórek mononuklearnych u kurcząt, które po otrzymaniu LPS dostawały ASA lub SS. Nie obserwowano znacznych różnic między subpopulacjami limfocytów krwi obwodowej. U kurcząt, które otrzymały LPS, obserwowano niewielki spadek stosunku komórek CD3+ względem Bu-1a, a następnie jego powrót do normy. ASA w interakcji z LPS spowodował przejściowy wzrost odsetka komórek CD4+.

**Omówienie:** Po jednorazowej, dożylniej iniekcji LPS u kurcząt występuje leukocytoza utrzymująca się powyżej jednego tygodnia. ASA, w odróżnieniu do SS, może w niewielkim stopniu normalizować stresowy leukogram wywołany podaniem LPS. Oba salicylany nie wpływają istotnie na subpopulacje limfocytów krwi obwodowej kurcząt. ASA w interakcji z LPS może wywoływać przejściowy wzrost odsetka limfocytów indukująco-wspomagających. Wyniki przeprowadzonych badań sugerują, że ASA i SS nie wykazują wyraźnych właściwości immunomodulujących w modelu endotoksemii u kurcząt.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cianferonii wsp., 2001. Selective inhibition of interleukin-4 gene expression in human T cells by aspirin. *Blood*, 97 (6), 1742–1749.



## ZASTOSOWANIE WIELOKIERUNKOWEJ METODY ANALITYCZNEJ ZE SPEKTROMETRIĄ MAS W DIAGNOSTYCE TOKSYKOLOGICZNEJ

### USE OF MULTI-CLASS LIQUID CHROMATOGRAPHY – TANDEM MASS SPECTROMETRY ANALYTICAL METHOD FOR TOXICOLOGICAL DIAGNOSIS

**Bartosz Sell, Tomasz Śniegocki, Piotr Jedziniak, Andrzej Posyniak, Jan Żmudzki**

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Farmakologii i Toksykologii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: bartosz.sell@piwet.pulawy.pl*

Weterynaryjna diagnostyka toksykologiczna stawia wysokie wymagania procedurom analitycznym służącym do identyfikacji i oznaczania substancji chemicznych wywołujących ostre zatrucia zwierząt. Te wymagania wynikają z możliwości zatrucia substancjami należącymi do różnych grup chemicznych oraz z różnic gatunkowych zwierząt narażonych na ich działanie [1, 2, 3]. Dotychczas w diagnostyce toksykologicznej stosowano procedury nastawione na oddzielne oznaczanie poszczególnych grup związków chemicznych, co wydłużało czas i podrażało koszty. Natomiast brakowało procedur, które umożliwiałyby jednoczesną ich identyfikację. Takie możliwości diagnostyczne dają zastosowanie chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły: treści żołądków, wątroby, nerki, mięśnie, mocz, krew od różnych gatunków zwierząt. Próbkę pochodziły od zwierząt przesłanych do badań toksykologicznych podejrzanych o zatrucie. Związki toksyczne zawarte w próbce analitycznej ekstrahowano acetonitrylem. Otrzymane ekstrakty oczyszczano przy użyciu sorbentów PSA oraz C18. Identyfikację związków wykonywano przy użyciu detektora spektrometrii mas API 5500 (PE Sciex, Kanada), a do rozdzielania wykorzystano chromatograf cieczowy z serii Agilent 1200 (Agilent Technologies, Niemcy).

**Wyniki i omówienie:** W weterynaryjnej diagnostyce toksykologicznej obecnie najczęściej stwierdzaną przyczyną zatrucia u zwierząt są insektycydy karbaminianowe, pestycydy fosforoorganiczne i rodentycydy. Nowoczesne metody analityczne pozwalają obecnie tworzyć metody obejmujące szeroki zakres analitów, jednak przeważnie są to związki należące do jednej grupy (np. pestycydy lub mikotoksyny). Dzięki zastosowaniu spektrometru mas API 5500, pracującego w trybie jonizacji dodatniej i ujemnej oraz chromatografii cieczowej, opracowano metodę umożliwiającą identyfikację 66 związków toksycznych najczęściej powodujących zatrucia. Metoda ta umożliwia identyfikację związków z grupy pestycydów fosforoorganicznych, insektycydów karbaminianowych, rodentycydów, mikotoksyn i kokcydiostatyków. Tak szeroki zakres badanych związków należących do różnych grup chemicznych pozwala na zastosowanie tej metody zarówno w przypadkach zatrucia zwierząt towarzyszących, jak i w przypadkach zatrucia zwierząt gospodarskich. Dzięki zastosowaniu tej metody udało się między innymi wykryć zatrucie świń rodentycydem (brodifakum) czy orłów karbofuranem. Innym przypadkiem było wykrycie zatrucia psa strychniną, podczas gdy podejrzenie zatrucia ukierunkowane było na insektycydy karbaminianowe.

Metoda została zwalidowana i stwierdzono, że jest specyficzna, a uzyskane granice oznaczalności i średniego odzysku dla poszczególnych analitów spełniają kryteria niezbędne, aby zaspokoić potrzeby weterynaryjnej diagnostyki toksykologicznej.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Guitart R., Croubels S., Caloni F., Sachana M., Davanzo F., Vandenbroucke V., Berny P., 2010. Animal poisoning in Europe. Part 1: Farm livestock and poultry, *The Veterinary Journal*, 183, 249–254.
- [2] Berny P., Caloni F., Croubels S., Sachana M., Vandenbroucke V., Davanzo F., Guitart R., 2010. Animal poisoning in Europe. Part 2: companion animals, *The Veterinary Journal*, 183, 255–259.
- [3] Guitart R., Sachana M., Caloni F., Croubels S., Vandenbroucke V., Berny P., 2010. Animal poisoning in Europe. Part 3: Wildlife. *The Veterinary Journal*, 183, 260–265.



**SEKCJA  
FIZJOLOGII  
I PATOLOGII KONIA**







# PŁYNOTERAPIA I TRANSFUZJA KRWI U KONI

## FLUID THERAPY AND BLOOD TRANSFUSION IN HORSES

Karsten Feige, Jessica M. Müller

Klinik für Pferde der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, adres e-mail: pfdkli@tiho-hannover.de

### Płynoterapia

U koni wyróżnia się różne postaci wstrząsu, przy czym najczęściej spotykany jest wstrząs hipowolemiczny.

Znaczne straty płynów mają miejsce u koni zazwyczaj w następstwie niedrożności jelit (*ileus*). Poza tym mogą występować w przypadku krwotoków wewnętrznych, zwykle do dużych jam ciała. Do sekwestracji płynów w obrębie klatki piersiowej lub jamy brzusznej dochodzi także w przebiegu zapalenia otrzewnej (*peritonitis*) lub opłucnej (*pleuritis*).

Podawanie płynów w tych przypadkach jest niezbędne ze względu na konieczność przywrócenia prawidłowej objętości krwi i stworzenia odpowiednich warunków do funkcjonowania układu sercowo-naczyniowego w celu zapewnienia odpowiedniej perfuzji tkanek i zaopatrzenia w tlen, a także wyrównania gospodarki elektrolitowej oraz kwasowo-zasadowej.

Celowana płynoterapia składa się ze wstępnej oceny utraty płynów i elektrolitów, wyboru odpowiednich płynów infuzyjnych i ich podanie w stosownej ilości, kontroli efektu terapeutycznego i co nie mniej ważne – rozpoznania skutków ubocznych.

### Transfuzja krwi

Najczęstszym wskazaniem do transfuzji pełnej krwi jest anemia pokrwotoczna w następstwie nagłej utraty krwi. Objawy kliniczne w postaci wstrząsu hipowolemicznego pojawiają się, kiedy strata krwi przekracza 30% całkowitej objętości. Występują tachykardia, tachypnoe, słabsze tętno oraz bladość błon śluzowych. Czasami pojawia się szmer sercowy jako skutek obniżonej lepkości krwi, która daje efekt w formie zwiększonego przepływu turbulentnego w obrębie zastawek serca.

Konieczność transfuzji krwi pojawia się, kiedy w następstwie nagłej utraty krwi hematokryt spada poniżej 15%. Wartość hematokrytu reprezentatywna dla utraty krwi jest jednakże osiągnięta dopiero po 12–24 godzinach, ponieważ dopiero w tym momencie następuje przesunięcie płynu z tkanek do układu krążenia.

Transfuzja pełnej krwi powinna być przeprowadzona jedynie w uzasadnionych przypadkach, ze względu na krótki czas przeżycia erytrocytów po transfuzji (4–6 dni w stosunku do 150 dni erytrocytów niepodlegających transfuzji), ryzyko reakcji niezgodności z krwią dawcy oraz supresji własnej erytropoezy.

Objętość krwi użyta do transfuzji zależy od masy ciała oraz wartości hematokrytu biorcy. Przyjmuje się ogólną zasadę, że objętość krwi transfuzyjnej na dorosłego konia wynosi 15–20 ml/kg, co daje konieczność podania 6–8 l pełnej krwi w celu przywrócenia odpowiedniej pojemności tlenowej krwi. Oprócz tego należy uwzględnić, że objętość krwi transfuzyjnej nie powinna przekraczać 20% całkowitej objętości krwi biorcy.



## PODSTAWY ELIMINACJI KONI Z OSTEochondROZĄ

### GUIDELINES FOR ELIMINATION OF HORSES WITH OSTEochondROSIS

Zdzisław Kłós

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Dużych Zwierząt, Zakład Chirurgii, 02-797 Warszawa, ul. Nowoursynowska 100, e-mail: zdzislaw\_klos@sggw.pl*

Martwica chrzęstno-kostna (*osteocondrosis*) (OC) jest chorobą, której początkowe zmiany patologiczne umiejscowione są w strefie wzrostu kości. Dotyczy także chrząstek stawowych, które w okresie wzrostu wypełniają również rolę chrząstek wzrostowych.

Osteochondroza może być zatem uznana za rodzaj zaburzenia kostnienia na podłożu chrzęstnym. Poprzedzona fazą utajoną choroba ujawnia się w formie klinicznej u osobników rosnących, zwłaszcza w okresie najintensywniejszego wzrostu, ale jej odległe skutki w formie przewlekłego jałowego zapalenia kostno-stawowego mogą być stwierdzone także u osobników somatycznie dojrzałych.

Martwica chrzęstno-kostna występuje u człowieka i wielu gatunków zwierząt, także u koni. Wyrządza w hodowli wiele szkody przez obniżenie wartości koni, zwłaszcza użytkowanych w sporcie. Uwaga powyższa nie może dziwić, jesteśmy bowiem oswojeni z myślą, że choroba w ogóle jest złem. Przeraża natomiast w zestawieniu z faktem nasilonego występowania OC; choruje od 30 do 50% koni niektórych ras. W Polsce objawy kliniczne martwicy chrzęstno-kostnej wykrywa się u – mniej więcej – co trzeciego konia trafiającego do zakładu treningowego.

Wymienione okoliczności wymuszają podejmowanie prób zmierzających jeśli już nie do całkowitego wyeliminowania choroby, to chociaż do ograniczenia jej występowania. Związki hodowców koni w niektórych krajach już od kilkunastu lat próbują tworzyć programy walki z osteochondrozą koni. Sprawa celu takiego dążenia wydaje się nie budzić wątpliwości. Trudności natomiast zjawiają się w chwili poszukiwania odpowiedzi na pytanie, jak to zrobić, jakimi sposobami cel osiągnąć.

Powód takiego stanu jest oczywisty. Jest nim nieznanostwo etiopatogenezy choroby. Dokładna przyczyna jest nieznanostwo, ale przyjmuje się, że jest to choroba polietologiczna. Wśród przyczyn uwzględnia się niezbilansowane żywienie, niedobory miedzi lub niewłaściwy stosunek miedzi do cynku, żelaza i kadmu, zaburzenia wchłaniania itp. Coraz powszechniejsze jest jednak przekonanie o dziedzicznym podłożu choroby. Trwają wciąż badania nad sposobem dziedziczenia i określeniem molekularnego podłoża dziedziczenia OC. Szybkie rozwiązanie tych problemów jest mało prawdopodobne, ponieważ nie dość dokładnie zdefiniowane są jeszcze zjawiska fenotypowe choroby.

Znacznym ułatwieniem eliminacji z hodowli osobników z OC byłoby możliwość rozpoznawania choroby jeszcze w fazie utajonej. Znalezienie markera utajonej fazy choroby na razie jednak się nie powiodło. Z konieczności więc podstawą wykluczenia konia z hodowli musi być – choć jeszcze nie dość dokładnie zdefiniowana – kliniczna postać choroby. Tworzone na podstawie kryterium klinicznego programy walki z osteochondrozą koni powinny być modyfikowane w miarę przybywania nowej wiedzy o tej chorobie.



## BADANIE KRTANI U KONI

### EXAMINATION OF THE LARYNX IN THE HORSES

Bernhard Ohnesorge

Klinik für Pferde der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, adres e-mail: [pfdkli@tiho-hannover.de](mailto:pfdkli@tiho-hannover.de)

**Wstęp:** Choroby krtani u koni występują często jako przyczyna szmerów oddechowych i są zwykle związane z dysfagią. Obok badania klinicznego, składającego się z badania ogólnego oraz szczegółowego badania górnych dróg oddechowych (ze szczególnym uwzględnieniem badania wysiłkowego) przy podejrzeniu choroby w obrębie krtani, do rutynowych metod diagnostycznych należy endoskopia. Obok tych powszechnych procedur stosowane są w coraz szerszym zakresie badania rentgenowskie, tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny oraz ultrasonografia. Dynamiczne choroby krtani, do których zaliczamy połowiczne porażenie krtani (*hemiplegia laryngis*), często możliwe są do oceny jedynie podczas endoskopii wysiłkowej na bieżni lub przy użyciu tzw. Overground-Endoscopy.

Już wywiad może dostarczyć decydujących wskazówek odnośnie możliwości występowania choroby krtani. Nierzadko badanie lekarsko-weterynaryjne zostaje zlecone przez właściciela lub jeźdźcę, który obserwuje nienormalny szmer oddechowy w czasie wysiłku albo kaszel przy pobieraniu pokarmu. Również zabiegi operacyjne przeprowadzane na krtani mogą prowadzić do późniejszych komplikacji objawiających się szmerem oddechowym i zwężeniem światła górnych dróg oddechowych.

**Omówienie:** W trakcie ogólnego badania klinicznego można stwierdzić już palpacyjnie w okolicy krtani atrofię *m. cricoarytaenoideus dorsalis* wysokiego stopnia towarzyszącą połowicznemu porażeniu krtani. W badaniu klinicznym szczególne znaczenie mają szmery oddechowe obecne w spoczynku lub w trakcie próby wysiłkowej i prawie zawsze odzwierciedlają ograniczenie przepływu powietrza w górnych drogach oddechowych. W sposób najbardziej typowy w zakresie klinicznym objawia się *hemiplegia laryngis*, gdzie mamy do czynienia z ciągłym szmerem wdychowym. Endoskopia stanowi badanie uzupełniające, doskonale służące diagnostyce chorób krtani. W obrębie tego narządu występuje wiele jednostek chorobowych, które nie dają objawów klinicznych, a diagnoza może zostać postawiona tylko na podstawie endoskopii. Do takich chorób należą zapalenie, hipoplazja oraz uwięźnięcie nagłośni (Epiglottis-Entrapment), cysty podnagłośniowe, a także „Fourth branch malformation”. Spoczynkowe badanie endoskopowe jest również kluczowe w przypadku oceny powikłań pooperacyjnych. Endoskopia wysiłkowa jest z kolei metodą diagnostyczną szczególnie przydatną przy ocenie dynamicznych chorób krtani takich jak odchylenie fałdów nalewkowo-nagłośniowych, cofnięcie nagłośni, zapadnięcie fałdów głosowych, uwięźnięcie nagłośni indukowane wysiłkiem oraz zwężenie *proc. corniculatus*.

Za pomocą badania rentgenowskiego można dobrze zobrazować struktury krtani, w szczególności nagłośnię, chrząstki nalewkowate oraz kieszonki krtaniowe. W celu lepszego uwidocznienia powierzchni wewnętrznej narządu można posłużyć się środkiem kontrastowym podanym za pomocą kateteru dogardłowo, unikając przy tym aspiracji do dalszych partii dróg oddechowych. Na zdjęciu rentgenowskim można rozpoznać m.in. cysty podnagłośniowe, przemieszczenie żagielka podniebiennego, zmiany strukturalne nagłośni oraz zwapnienia w obrębie chrząstek krtaniowych.

Do oceny umięśnienia okolicy krtani wykorzystuje się natomiast ultrasonografię. Analizie podlegają echogeniczność tkanki mięśniowej, odgraniczenie mięśnia, jego kontur oraz kształt.

Tomografia komputerowa (CT) oraz tomografia rezonansu magnetycznego (MRT) to metody dodatkowe stosowane bardzo rzadko, w pojedynczych przypadkach głęboko zlokalizowanych cyst podnagłośniowych lub przy wadach budowy krtani.



## STOSOWANIE HORMONÓW W ROZRODZIE KONI THE USE OF HORMONES IN HORSE REPRODUCTION

**Andrzej Raś**

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, e-mail: andrzej.ras@wp.pl*

Zastosowanie terapii hormonalnej u koni ma na celu wspomaganie lub regulację naturalnie przebiegających procesów rozrodczych i opiera się na dobrej znajomości fizjologicznych zależności między gruczołami dokrewnymi a narządami docelowymi. Ingerencja w status hormonalny zwierzęcia wymaga więc od lekarza weterynarii dobrej znajomości tych zależności oraz uwzględniania istniejącymi między nimi sprzężeń zwrotnych.

Najczęstszym wskazaniem do hormonalnej indukcji rui jest potrzeba skrócenia cyklu ze względów hodowlano-zootechnicznych (synchronizacja kilku samic) lub trudności w obserwacji rui. Zależnie od stanu funkcjonalnego jajników stosuje się preparaty zawierające gestageny, analogi albo naturalne prostaglandyny oraz analogi GnRH.

Zdecydowana większość rui stymulowanych hormonalnie kończy się spontaniczną owulacją. By ten odsetek zwiększyć, można stosować hormonalną indukcję owulacji poprzez podawanie preparatów GnRH (lub jego analogi, np. Buserelina 40 µg) albo hCG (1500–3000 j.m.) przy wielkości pęcherzyka jajnikowego >3,5 cm. Spodziewany czas owulacji wynosi ok. 24–48 godzin po iniekcji. Ogólnie przyjmuje się, iż czas od podania hormonu do zaistnienia owulacji jest odwrotnie proporcjonalny do wielkości pęcherzyka jajnikowego, choć stwierdza się tu duże różnice osobnicze.

W przypadku klaczy starszych lub obciążonych metabolicznie zdarza się potrzeba wspomagania wydzielniczości ciała żółtego we wczesnej ciąży poprzez profilaktyczne iniekcje preparatów progestaennych (Altrenogest) wspomagających wydzielanie endogennych progestagenów z ciała żółtego do momentu przejścia tej funkcji przez wydolne łożysko.

Istnieje możliwość oznaczania specyficznych dla klaczy hormonów ciążowych we krwi, moczu (eCG, siarczan estronu) lub kale (estrogeny całkowite). Metody te stosowane są czasem w ogrodach zoologicznych do badania płodności dzikich koniowatych.

Oksytocynę stosuje się w celu wywołania albo przyspieszenia porodu oraz do wspomagania czynności skurczowej macicy po porodzie lub w przypadku leczenia stanów zapalnych przebiegających z zaleganiem płynu w jej świetle.

W przypadku podejrzenia wnetrostwa u samca rozstrzygającym badaniem jest próba stymulacyjna za pomocą hCG i pomiar wartości testosteronu oraz całkowitych estrogenów. Preparaty GnRH stosowane są leczniczo przy obniżonych wartościach nasienia ogierów kryjących oraz u źrebiąt do próby farmakologicznego sprowadzenia do moszny niezstąpionych jąder.



## WYKORZYSTANIE BARWIENIA METODĄ DAPI DO OCENY BLASTOCYST KLACZY RASY KONIK POLSKI

### EVALUATION OF EMBRYOS RECOVERED FROM KONIK POLSKI MARES USING DAPI STAINING

Marta Barańska, Adam Okólski

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Rozrodu i Anatomii Zwierząt, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, e-mail: martabaranska@me.com

**Wstęp:** Ocena przeżywalności i morfologii zarodków w przedimplantacyjnym stadium rozwoju jest istotnym kryterium warunkującym ich przydatność do późniejszej transplantacji i innych zabiegów biotechnologicznych. Wykorzystanie tylko mikroskopu świetlnego do oceny jakości zarodków [1] nie pozwala na ich precyzyjną analizę.

**Cel badań:** Określenie całkowitej liczby jąder w blastocystach koni uzyskanych *in vivo* w 6., 7. lub 8 dni po owulacji.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 37 zarodków pozyskanych *in vivo* poprzez przepłukanie macicy klaczy rasy Konik Polski w 6., 7. lub 8. dniu po owulacji. Pozyskane zarodki utrwalono w 4% PFA, a następnie wybarwiono metodą DAPI (4'6-diaminoino-2-fenylindol) (Vecta-Shield DAPI, Vector Laboratories, CA). Analizę zarodków przeprowadzono przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego z filtrem o długości fali 358–461 nm do detekcji niebieskiej fluorescencji, charakterystycznej dla DAPI. Pozwoliło to na oznaczenie wszystkich jąder w analizowanych blastocystach.

**Wyniki i wnioski:** Poziom odzysku zarodków po płukaniu macicy klaczy wynosił 44% (37/84). Liczba pozyskanych zarodków w 6. dni po owulacji była zdecydowanie niższa (17%) niż w przypadku zarodków uzyskanych w wyniku płukania w 7. lub 8. dniu po owulacji (odpowiednio 50 i 62%). Tabela 1 prezentuje całkowitą liczbę blastomerów w zarodkach w zależności od ich stadium rozwojowego.

Tabela 1. Średnica i całkowita liczba komórek w zarodkach koni pozyskanych *in vivo* w 6, 7 lub 8 dni po owulacji (P<0,01)

Dzień po owulacji	Liczba pozyskanych zarodków	Liczba wykonanych zabiegów płukania	Średnica (µm)	Całkowita liczba blastomerów (średnia + SD)
6.	4	23	239±3,2	463±71,1
7.	20	40	384±1,7	2410±67,2
8.	13	21	597±2,5	6981±63,7
Razem	37	84		

Liczba blastomerów w zarodkach koni uzyskanych *in vivo* wzrosła kilkakrotnie w ciągu doby. Jest ona zdecydowanie większa w porównaniu z liczbą jąder w zarodkach innych gatunków zwierząt (krowa – 99 blastomerów) w tym samym stadium rozwojowym – 7 dni po owulacji [Pomar i wsp., 2005].

Barwienie DAPI pozwala na określenie całkowitej liczby jąder w blastocystach koni, a tym samym służy jako pomocnicza metoda w określaniu jakości zarodków do transplantacji.

#### Piśmiennictwo:

- [1] A.O. McKinnon, E.L. Squires, 1987. Equine embryo transfer. Anim. Reprod. Lab. Bull., Colorado State University.





## SEPTYCZNE ZAPALENIE STAWU KOLANOWEGO. PRZYPADEK SKUTECZNEGO POSTĘPOWANIA LECZNICZEGO

### SEPTIC ARTHRITIS OF THE STIFLE JOINT. A CASE OF EFFECTIVE TREATMENT

Anna Biazik, Radomir Henklewski, Marta Szmigielska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: anna.biazik@gmail.com

Septyczne zapalenie stawów u źrebiąt jest wynikiem przedostania się bakterii drogą krwi do jam stawowych. Najczęściej stwierdzone jest u młodych źrebiąt, do 2 tygodni życia, jednak zdarzyć się może również w późniejszym wieku. Jest to choroba generująca duże koszty zarówno samego leczenia, jak i ogromne straty finansowe w związku z utratą możliwości normalnego użytkowania tych pacjentów w późniejszym okresie.

**Cel pracy:** Opisanie przypadku 6-tygodniowego źrebięcia z długo trwającym septycznym zapaleniem stawów.

**Materiał i metody:** Klacz w wieku 6 tygodni. Z wywiadu ustalono silną kulawiznę obu kończyn miednicznych, obrzęk i wzrost ciepłoty obu stawów kolanowych oraz ogólne posmutnienie źrebaka od ok. tygodnia, dwóch. W związku z zaleganiem u klaczy pojawiły się odleżyny na łokciach, obu krętarzach. Po przyjeździe konia do kliniki wykonano zdjęcia RTG, na których zaobserwowano cysty w kości piszczelowej. Natychmiast wdrożono leczenie ogólne (cefuroksym 30 mg/kg co 8 godz. dożylnie, meloksikam 0,6 mg/kg co 24 godz. doustnie) i zdecydowano o konieczności płukania stawów kolanowych. Zabieg wykonano siedmiokrotnie w odstępach 3-dniowych w znieczuleniu ogólnym. Stawy kolanowe płukane były płynem Ringera, przed wyciągnięciem igły podawano amikacynę 500 mg/staw. Po upływie siedmiu dni od ostatniego płukania wykonano punkcję stawów, podano amikacynę z kwasem hialuronowym. Działanie to powtórzono po tygodniu. Odleżyny leczone były metodą otwartą, 3 x dziennie płukane roztworem octenidyny i smarowane sudokremem. Antybiotykoterapia ogólna prowadzona była przez 4 tygodnie, ze względu na długotrwałe podawanie niesterydowych leków przeciwzapalnych (2 tygodnie) wdrożono kurację p.wrzodową – omeprazol 2 mg/kg doustnie.

**Wyniki i omówienie:** Po 4 tygodniach źrebak został wypisany z kliniki. Kontrolne zdjęcie RTG wykonane po 3 miesiącach wykazało obecność zmian o charakterze zmniejszenia wysycenia kości piszczelowej w okolicy nasady bliższej w miejscu komunikującym ze stawem. Badanie kliniczne konia po upływie roku nie wykazało kulawizny kończyn miednicznych.

Septyczne zapalenie stawów powinno być podejrzewane u każdego źrebaka z objawami kulawizny i obrzęku stawów do 2. miesiąca życia. Leczeniem z wyboru jest tutaj intensywna i długotrwała antybiotykoterapia, przy użyciu preparatów o szerokim spektrum działania. Szybko wdrożone prawidłowe leczenie pozwala na uniknięcie konieczności wykonywania kosztownych i ryzykownych dla życia zwierzęcia zabiegów operacyjnych i znacznie zwiększa szansę na późniejszą możliwość sportowego użytkowania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Knottenbelt D. C., Holdstock N., Madigan J.E., 2004. Equine Neonatology. Medicine and Surgery. Saunders.
- [2] Vos N.J., Ducharme N. G., 2008. Analysis of factors influencing prognosis in foals with septic arthritis. Irish Veterinary Journal, 61(2) 102–106.



## OCENA STANU ZDROWIA GRUCZOŁU MLEKOWEGO KLACZY NA PODSTAWIE WYNIKÓW BADANIA BAKTERIOLOGICZNEGO MLEKA KLACZY

### THE RESULTS OF THE BACTERIOLOGICAL TEST OF THE MARE'S MILK AS THE MAIN ASSESSMENT OF THE HEALTHY STATUS EVALUATION FOR THE MARE MAMMARY GLAND

Dominika Domańska<sup>1</sup>, Zdzisław Gajewski<sup>1</sup>, Edward Malinowski<sup>2</sup>, Agnieszka Drzewiecka<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, Zakład Rozrodu Zwierząt, Biotechnologii i Andrologii, ul. Nowoursynowska 100, 02-797 Warszawa, e-mail: domanska.dominika@gmail.com

<sup>2</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego w Bydgoszczy, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Stany zapalne gruczołu mlekowego u klaczy występują rzadziej niż u krów czy małych przeżuwaczy. Rozpoznawane są w momencie wystąpienia wyraźnych objawów klinicznych, m.in. takich jak: obrzęk, powiększenie wymienia, bolesność gruczołu w dotyku, niedopuszczenie źrebięcia do ssania, czasem mogą się dołączyć kulawizny tylnych kończyn lub odstawianie ich (w zależności od tego, która z połów wymienia objęta jest stanem zapalnym). W przeciwieństwie do krów, u których coraz częściej diagnozuje się podkliniczne stany zapalne gruczołu mlekowego, u klaczy zjawisko to nie zostało opisane w literaturze, co nie oznacza, że problem nie istnieje.

**Cel badań:** Rozszerzenie wiedzy dotyczącej problematyki stanów zapalnych gruczołu mlekowego u klaczy (*mastitis*), ze szczególnym uwzględnieniem podklinicznych stanów zapalnych, za pomocą oceny bakteriologicznej mleka klaczy.

**Materiał i metody:** Do badań wykorzystano 42 klacze w wieku od 4 do 18 lat, rasy Pełnej Krwi Angielskiej (8 klaczy), Czystej Krwi Arabskiej (14 klaczy), Angloarabskiej (20 klaczy). Klacze pochodziły ze Stadniny Koni Janów Podlaski, Walewice oraz Stadniny Koni w Kozienicach. Od klaczy pozyskiwano mleko w okresie poporodowym i po odsadzeniu źrebiąt, a przypadło to na okres wiosenny i jesienny 2010 r. Wszystkie klacze poddane były ogólnemu badaniu klinicznemu i szczegółowemu badaniu gruczołu mlekowego. Od badanych zwierząt pobierano mleko i siarę. Mleko/siara pobierane było z każdej połowy wymienia do osobnej probówki. W pobranym materiale oceniano liczbę komórek somatycznych oraz wykonano badania bakteriologiczne.

**Wyniki i omówienie:** Podczas doświadczenia klacze nie wykazywały oznak choroby, poród w większości przypadków przebiegł bez powikłań. W niektórych przypadkach, pomimo braku objawów klinicznych choroby, badania bakteriologiczne pobranego materiału były pozytywne. W większości przypadków było to skorelowane ze wzrostem ilości komórek somatycznych w mleku.

Spośród przebadanych klaczy u 31% zwierząt odnotowano dodatni wynik badania bakteriologicznego. Pozytywny posiew bakteriologiczny skorelowany był na ogół z podwyższoną ilością komórek somatycznych. W 7% przypadków w badaniu bakteriologicznym uzyskano *Streptococcus Equi ssp. Zooepidemicus* oraz *Streptococcus dysgalactia ssp. Equisimilis*. W 4% przypadków było to *Streptococcus Equinus*, *Enterococcus avium*, *Klebsiella oxytoca*, *Staphylococcus haenolyticus*. U klaczy, u których odnotowano wzrost drobnoustrojów, wartości komórek somatycznych kształtowały się średnio  $4428 \times 10^3/\text{ml}$  (max.  $33762 \times 10^3/\text{ml}$ , min.  $37 \times 10^3/\text{ml}$ ).

Wyniki te wydają się potwierdzać występowanie podklinicznych stanów zapalnych gruczołu mlekowego u klaczy. Wymaga to jednak dalszych badań, celem lepszego zrozumienia i poprawnego zdiagnozowania tej jednostki chorobowej.

#### Piśmiennictwo:

[1] Addo P.B., Wilcox G.E., Taussig R., 1974. Mastitis in a mare caused by *C. ovis*, Vet. Rec., 95 (9), 193.



## ANALIZA UDZIAŁU KRĄŻĄCYCH KOMPLEKSÓW IMMUNOLOGICZNYCH W SUROWICACH KLINICZNIE ZDROWYCH KONI

### ANALYSIS OF PARTICIPATION CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN SERA OF CLINICALLY HEALTHY HORSES

Ryszard Gołda, Wiesław Krumrych

Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Biochemii i Biologii Komórki,  
ul. Chodkiewicza 30, 85-064 Bydgoszcz, e-mail: goldar@ukw.edu.pl

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Fizjologii Rozrodu i Gruczołu  
Mlekowego, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Pojęciem krążące kompleksy immunologiczne (KKI) określa się struktury powstające w wielu reakcjach immunologicznych. Są to wielocząsteczkowe agregaty białkowe krążące we krwi, zawierające głównie antygeny zewnątrz- lub wewnątrzpochothane i skierowane przeciw nim przeciwciała. Wzrost stężenia krążących kompleksów immunologicznych obserwowany jest w wielu chorobach ludzi i zwierząt [1].

**Cel pracy:** Analiza poziomów krążących kompleksów immunologicznych w surowicach klinicznie zdrowych koni oraz charakterystyka frakcji białkowych wchodzących w skład badanych kompleksów.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiła krew żylna 42 klinicznie zdrowych koni w wieku od 2 do 16 lat. Próbkę surowicy przechowywano do czasu wykonania analiz w temperaturze  $-20^{\circ}\text{C}$ . Poziomy krążących kompleksów immunologicznych określono metodą Haskowej [3]. Następnie izolowano z surowic frakcje białkowe KKI, po czym prowadzono ich dysocjację w celu wyodrębnienia części antygenowej. Dalsza analiza jakościowa prowadzona była przy zastosowaniu elektroforezy SDS-PAGE. Wchodzące w skład KKI białka wizualizowano Coomassie Brilliant Blue w połączeniu z czułą metodą srebrową [2].

**Wyniki i omówienie:** Średnia wartość ekstynkcji w surowicach końskich przy  $E_{450}$  wynosiła  $x_{sr} = 0,278 \pm 0,096$ . Rezultat ten wskazuje na nieco wyższe wartości poziomów w porównaniu z wartościami uzyskanymi przez innych autorów [3]. Różnica ta może wynikać z dwukrotnie większej liczby przebadanych przez nas przypadków, jak również zróżnicowania wiekowego badanych zwierząt. Analiza elektroforetyczna pozwoliła wykryć frakcje białek krążących kompleksów immunologicznych o różnych masach cząsteczkowych. Określono ogółem 23 frakcje białkowe w przedziale mas cząsteczkowych od 25 do 294 kDa. Badanie elektroforetyczne wykazało bardzo niewielkie zróżnicowanie w występowaniu poszczególnych frakcji białkowych KKI u klinicznie zdrowych koni. Wydaje się, że analiza KKI w surowicach zwierząt, ich dysocjacja i identyfikacja części antygenowej pod względem swoistości mogą ułatwić różnicowanie populacji osobników zdrowych od chorych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Phillips T.M., 1980. Immune Complex Assays: Diagnostic and Clinical Applications, Critical Reviews in Clinical Laboratory Science: Volume, 27, 237–264.
- [2] Wiederkehr F., Büeler, M. R. Vonderschmitt D.J., 1991. Chromatographic and Electrophoretic Studies of Circulating Immune Complexes in plasma: Journal of Chromatography, 556, 77–87.
- [3] Von Stanek Ch., Mayr B., Graninger W., Hofmann R., 1984. Immunkomplexe im peripheren Blut bei gesunden und an Hufrehe erkrankten Pferden, Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 97, 25–28.



## DESMOPATIA INSERCYJNA PRZYCZEPU WIĘZADŁA KARKOWEGO KONIA INSERTIOM DESMOPATHY OF THE NUCHAL LIGAMENT IN HORSES

Radomir Henklewski, Anna Biazik, Marta Szmigielska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii,  
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: radomir.h@gmail.com

Mianem entezopatii (*enthesitis* – przyczep) określa się wszelkie zmiany zapalne dotyczące miejsca przyczepu ścięgien i ich pochewek ścięgnistych lub więzadeł do kości. Tak więc mamy również do czynienia z tendo- i desmopatiami [Spodarczy 2002]. W medycynie weterynaryjnej zajmującej się chorobami koni najczęściej występują choroby przyczepu mięśnia międzykostnego pośrodkowego do kości trzeciej śródreźca, w jego odcinku bliższym i dalszym, czyli przyczepu jego ramion do trzyczek palcowych bliższych. Same zmiany, które można odnotować tylko w badaniu rtg, nie zawsze odpowiadają obrazom klinicznym. Podobnie jak w przypadku tak zwanego kissing spine. Nie zawsze zmiany rtg korespondują z objawami klinicznymi.

**Materiał i metody:** Opis przypadku. Pięcioletnia klacz szlachetnej półkrwi, używana do ujeżdżenia, została poddana szczegółowemu badaniu ortopedycznemu. Z wywiadu ustalono, że klacz traci siłę pracy kończyn miednicznych w momencie, gdy koń jest jeżdżony w pełnym zebraniu. Innymi słowy, traci impuls w momencie, gdy głowa jest zganaszowana. Klacz zbadano, wykluczając kulawiznę kończyn piersiowych i miednicznych. W trakcie badania palpacyjnego mięśni okolicy szyi – potylicy koń wykazywał niepokój i bolesność. Wykonano zdjęcie rentgenowskie, które uwidocznilo zmiany w okolicy przyczepu na guzowatości kości potylicznej. Zmiany mają charakter zwyrodnieniowy, wytwórczy. Ich wygląd wraz z badaniem klinicznym może świadczyć o toczącym się w tej okolicy stanie zapalnym.

**Wyniki i omówienie:** W praktyce lekarza ortopedy zajmującego się chorobami koni coraz częściej można spotkać konie z podobnymi problemami występującymi w trakcie treningu. Badania kliniczne i radiologiczne pozwalają na postawienie podobnej jak w opisywanym powyżej przypadku diagnozy. Sytuacja ma miejsce, albowiem sport konny w kraju podlega ciągłemu rozwojowi. Zawodnicy i trenerzy wymagają od koni większych umiejętności, a co się z tym wiąże, konie poddawane są coraz większym obciążeniom. Z informacji ustnych (niepublikowane dane Holerieder) wynika, że w Niemczech duży procent koni użytkowanych ujeżdżeniowo cierpi na tę przypadłość. Dzieje się tak szczególnie u koni tej dyscypliny jeździeckiej, bowiem właśnie tu ustawienie głowy jest ustawiona w zgięciu, a czasami nawet nienaturalnie mocno zgięta, tak że chrapami koń dotyka własnej szyi. Jak z tego wynika, często dochodzi do nadmiernych napięć w miejscu przyczepu więzadła karkowego do kości czaszki.

Z pewnością w niedalekiej przyszłości zagadnienie poruszone w niniejszej pracy wymagać będzie dodatkowych badań.

### Piśmiennictwo:

- [1] Nowak M., 2001. Die Insertionsdesmopathie des Nackenbandes beim Pferd, in Proceedings. 7th Congress on Equine Medicine and Surgery Geneva 11 to 13 December 2001, 26–28.
- [2] Weiler H., 1997. Zur Diagnostik der Insertionsdesmopathie des Funiculus nuchae an der Squama occipitalis, [in:] Deutsche Reiterliche Vereinigung (Hrsg.): Diagnostics in horses. Warendorf: FN-Verlag, 106–108.



## WPŁYW NATURALNEGO ZAKAŻENIA EHV1 ORAZ NIESWOISTEJ IMMUNOSTYMULACJI KLACZY NA EFEKT REPRODUKCYJNY

### INFLUENCE OF NATURAL EHV1 INFECTION AND NON-SPECIFIC IMMUNOSTIMULATION OF MARES ON THE REPRODUCTIVE EFFECT

Katarzyna Humelt, Zbigniew Grądzi, Łukasz Jarosz

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: gradzki@up.lublin.pl

Zakażenia wywoływane przez herpeswirus koni typu 1 (EHV1) występują powszechnie w populacji koni na całym świecie. Przebieg kliniczny zakażenia jest zróżnicowany, natomiast ekonomiczne znaczenie tych infekcji wiąże się głównie z możliwością wywoływania przez wirus sporadycznych lub masowych ronień u klaczy ciężarnych. Aktualnie stosowane programy profilaktyki swoistej zakażeń herpeswirusowych koni nie dają pełnej ochrony przed zakażeniem i jego następstwami klinicznymi. Szybki przebieg ronień na tle EHV1 oraz ich masowość wymuszają w sytuacji awaryjnej podejmowanie natychmiastowych działań, których celem jest opanowanie zakażenia u możliwie największej liczby ciężarnych klaczy, a tym samym uratowanie ich potomstwa.

**Cel badań:** Ocena wpływu naturalnego zakażenia EHV1 oraz nieswoistej stymulacji układu immunologicznego klaczy ciężarnych przy użyciu izoprinozyny na efekt reprodukcyjny.

**Materiał i metody:** Badania wykonywano w stadninie koni pełnej krwi angielskiej, w grupie klaczy ciężarnych będących w ostatnim trymestrze ciąży. Z przyczyn niezależnych od właściciela w sezonie objętym badaniami nie wykonywano u klaczy szczepień przeciwko zakażeniom herpeswirusowym. Wskazaniem do podjęcia działań interwencyjnych był wybuch zakażenia EHV1 i związana z nim fala masowych ronień w stadzie. Podejrzenie zakażenia EHV1 postawiono na podstawie danych wywiadu, badania klinicznego klaczy oraz anatomopatologicznie poronionych płodów, które potwierdzono metodą multiplex PCR. W grupie kontrolnej 13 klaczy nie podejmowano postępowania lekarsko-weterynaryjnego. W grupie doświadczalnej 15 klaczy zastosowano preparat Isoprivet (Vet-Agro, Lublin), będący 20% wodnym roztworem izoprinozyny. Immunostymulator podawano domięśniowo w dawce 10 mg/kg m.c. dwukrotnie w odstępie 4 dni.

**Wyniki i omówienie:** W grupie kontrolnej klaczy zakażonych, nie poddawanych immunostymulacji, spośród 13 klaczy objętych badaniem 6 klaczy poroniło, u jednej poród odbył się w terminie, ale płód był martwy, natomiast jedna klacz urodziła w terminie słabo żywotne źrebię, które padło w pierwszej dobie po urodzeniu. Straty wśród przychówka wyniosły zatem 62%. W grupie 15 klaczy zakażonych, poddawanych immunostymulacji izoprinozyną, poroniły tylko 3 samice (20%). Pozostałe urodziły w terminie zdrowe źrebięta. Przeprowadzone badanie wykazało pozytywny wpływ izoprinozyny na efekt reprodukcyjny u klaczy w warunkach naturalnego zakażenia herpeswirusem koni typu 1. Działanie interwencyjne w sytuacji zagrożenia ronieniami na tle EHV1 powinno zmierzać w kierunku ograniczenia lub zahamowania wirerii związanej z leukocytami, czemu sprzyja sprawność układu immunologicznego, w tym głównie komórkowych mechanizmów cytotoksyczności. W dostępnym piśmiennictwie brak jest doniesień nt. stosowania izoprinozyny w zakażeniach EHV1 u koni. Preparat ten jest jednak powszechnie stosowany u ludzi w celu łagodzenia objawów klinicznych i zwalczania infekcji powodowanej przez wirus *herpes simplex*. Podanie izoprinozyny ciężarnym klaczom może stanowić uzupełnienie programów profilaktyki swoistej zakażeń herpeswirusowych w stadninach zapowietrzonych EHV1.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Masihi K.N., 2001. Immunomodulatory agents for prophylaxis and therapy of infections, *International J. Antimicrob. Agents* 14, 181–191.
- [2] Slater J.D., 2007. *Equine Herpesviruses*, [in:] Sellon D.C., Long M.T. (red.): *Equine infectious diseases*, Saunders Elsevier, USA, 134–153.





## WPŁYW NATURALNEGO ZAKAŻENIA EHV1 NA WYBRANE PARAMETRY IMMUNOLOGICZNE U KLACZY

### INFLUENCE OF NATURAL EHV1 INFECTION ON THE SELECTED IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN MARES

Katarzyna Humelt, Zbigniew Grądzi, Łukasz Jarosz

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: gradzki@up.lublin.pl

Zakażenia wywoływane przez herpeswirus koni typu 1 (EHV1) występują powszechnie w populacji koni na całym świecie. Dzięki możliwości wywoływania tzw. wirerii komórkowej wirus często wykazuje tendencję do zakażenia wielonarządowego, czemu towarzyszy uogólnione zapalenie śródbłónka naczyń. Jedną z konsekwencji klinicznych tego procesu może być zajęcie ciężarnej macicy, prowadzące do obumarcia płodu i ronienia.

**Cel: badań:** Ocena wpływu naturalnego zakażenia EHV1 przebiegającego z ronieniem na wybrane parametry immunologiczne u klaczy.

**Materiał i metody:** Badania wykonano u klaczy pełnej krwi angielskiej w stadninie hodowlanej, w której stwierdzono przypadek fali masowych ronień na tle EHV1. Grupę doświadczalną stanowiło 8 klaczy, u których w okresie pomiędzy 270.–320. dniem ciąży doszło do poronienia lub urodzenia w terminie słabo żywotnego albo martwego źrebięcia. Grupę kontrolną stanowiło 5 klaczy klinicznie zdrowych, u których porody odbywały się w przewidywanym terminie i przebiegały bez komplikacji. Próbkę krwi w obydwu grupach pobierano 3-krotnie, na 42 i 21 dni przed przewidywanym terminem porodu oraz w pierwszej dobie po porodzie lub poronieniu. Metodą cytometrii przepływowej w badanych próbkach oznaczano odsetek limfocytów T o fenotypie CD2<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> oraz komórek B, a na podstawie uzyskanych wyników obliczono proporcję CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> oraz odsetek komórek NK. Przy użyciu komercyjnych testów ELISA oznaczono w surowicy stężenie wybranych białek ostrej fazy: surowiczego amyloidu A i haptoglobiny.

**Wyniki i omówienie:** Ocena odsetka badanych parametrów u klaczy z fizjologicznie przebiegającą ciążą wskazuje, że wartości te w ostatnim trymestrze ciąży utrzymują się na niezmiennym poziomie. Analiza wartości odsetka limfocytów CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> w grupie klaczy zakażonych EHV1 wskazuje na występowanie supresji odpowiedzi typu komórkowego, współistniejącej ze szczytowym nasileniem zakażenia i utrzymującej się także w okresie po poronieniu. Porównanie odsetka obydwu subpopulacji limfocytów pomiędzy grupą kontrolną i zakażoną EHV1 pozwala na określenie momentu wystąpienia zakażenia w stadzie, co wyraża się statystycznie istotnym spadkiem wartości badanych parametrów. Proporcjonalne obniżenie wartości odsetka limfocytów CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> u klaczy po zakażeniu EHV1 warunkuje utrzymywanie się na niezmiennym poziomie wartości proporcji obydwu subpopulacji komórek, co teoretycznie mogłoby świadczyć o zachowanej zdolności do prawidłowej odpowiedzi immunologicznej. Wykazano statystycznie istotny wzrost odsetka komórek NK w grupie klaczy zakażonych EHV1, co świadczy o uaktywnieniu w przebiegu zakażenia nieswoistych mechanizmów obronnych. Statystycznie istotny spadek wartości badanego parametru stwierdzono natomiast u klaczy zakażonych w pierwszej dobie po poronieniu. W grupie doświadczalnej wykazano statystycznie istotny wzrost stężenia SAA w surowicy, korespondujący z okresem szczytowego nasilenia infekcji. Wyniki te potwierdzają tezę, że w przebiegu zakażenia EHV1 dochodzi u klaczy do rozwoju intensywnego odczynu zapalnego, którego nie stwierdza się u zwierząt klinicznie zdrowych w trakcie fizjologicznego przebiegu ciąży i porodu.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Slater J.D., 2007. Equine Herpesviruses, [in:] Sellon D.C., Long M.T. (red.): Equine infectious diseases, Saunders Elsevier, USA, 134–153.





## OCENA WYBRANYCH PARAMETRÓW IMMUNOLOGICZNYCH U KLACZY ZAKAŻONYCH EHV1, PODDAWANYCH IMMUNOSTYMULACJI IZOPRYNOZYNĄ

### ASSESSMENT OF SELECTED IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN MARES NATURALLY INFECTED WITH EHV1 AND STIMULATED WITH ISOPRINOSINE

Katarzyna Humelt, Zbigniew Grądziński, Jarosz Łukasz

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: gradzki@up.lublin.pl

Zakażenia wywoływane przez herpeswirus koni typu 1 (EHV1) występują powszechnie w populacji koni na całym świecie. Niska efektywność swoistej profilaktyki tych zakażeń oraz brak możliwości leczenia etiotropowego skłaniają do poszukiwania alternatywnych lub uzupełniających metod oddziaływania na układ immunologiczny. Jedną z takich metod jest stosowanie preparatów o działaniu immunostymulującym. Izoprynozyna jest syntetycznym stymulatorem wykorzystywanym powszechnie w zwalczaniu i łagodzeniu klinicznych objawów infekcji herpeswirusowych u człowieka.

**Cel badań:** Ocena wybranych parametrów immunologicznych u klaczy zakażonych EHV1, poddawanych immunostymulacji izoprynozyną w zależności od efektu reprodukcyjnego, świadczącego o stymulacji efektywnej lub nieefektywnej.

**Materiał i metody:** Badania wykonano w grupie 15 klaczy pełnej krwi angielskiej w stadninie hodowlanej, w której stwierdzono przypadek fali masowych ronień na tle EHV1. Wszystkim klaczom z grupy podano preparat Isoprivet (Vet-Agro, Lublin), będący 20% wodnym roztworem izoprynozyny. Immunostymulator podawano domięśniowo w dawce 10 mg/kg m.c. dwukrotnie w odstępie 4 dni. Opierając się na efekcie reprodukcyjnym w badanej grupie wyodrębniono dwie podgrupy, A i B, liczące odpowiednio 12 i 3 klacze. W podgrupie A wszystkie klacze urodziły w terminie zdrowe źrebięta. W podgrupie B u wszystkich klaczy doszło do poronienia na 2–3 tyg. przed terminem porodu. Próbkę krwi pobierano na 42 i 21 dni przed przewidywanym terminem porodu, w pierwszej dobie po porodzie lub poronieniu oraz dodatkowo przed pierwszym i drugim podaniem izoprynozyny i 3-krotnie w terminach 8, 12 i 16 dni, licząc od pierwszej iniekcji immunostymulatora, przyjmowanej jako dzień 0. Metodą cytometrii przepływowej w badanych próbkach oznaczano odsetek limfocytów T o fenotypie CD2<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> oraz komórek B, a dzięki uzyskanym wynikom obliczono proporcję CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> oraz odsetek komórek NK. Przy użyciu komercyjnych testów ELISA oznaczono w surowicy stężenie wybranych białek ostrej fazy: surowiczego amyloidu A i haptoglobiny.

**Wyniki i omówienie:** Wykazano obniżenie odsetka limfocytów CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> w dniu 0 przed podaniem izoprynozyny, a następnie statystycznie istotny wzrost wartości badanych parametrów, który w przypadku CD4<sup>+</sup> następował w 4. dniu po podaniu immunostymulatora, natomiast w przypadku CD8<sup>+</sup> dopiero w 4. dniu po podaniu drugiej dawki izoprynozyny. Dynamika ta dowodzi, że komórki CD8<sup>+</sup>, w odróżnieniu od CD4<sup>+</sup>, reagują z opóźnieniem na farmakologiczną modulację odpowiedzi immunologicznej, co zgodne jest z ogólnie akceptowanym poglądem, że limfocyty pomocnicze stanowią główną subpopulację komórek w odniesieniu do oddziaływania izoprynozyny. W obydwu podgrupach wykazano statystycznie istotny wzrost wartości proporcji CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> w 4. dniu po podaniu izoprynozyny. Porównanie wartości badanego parametru pomiędzy grupami wykazało większy wzrost CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> w podgrupie A w porównaniu z B, czym można wytłumaczyć różnicę dotyczącą efektu reprodukcyjnego. W obu grupach stwierdzono statystycznie istotny spadek odsetka limfocytów B w 4. dniu po podaniu immunostymulatora. Zjawisko to można wiązać ze zdolnością preparatu do aktywowania odpowiedzi o profilu Th1 oraz z wzajemnym hamującym oddziaływaniem profilów Th1 i Th2. Wyniki te potwierdzają tezę nt. stymulującego oddziaływania izoprynozyny na mechanizm przekierowywania profilu odpowiedzi w kierunku Th1. Ocena dynamiki kształtowania się stężenia SAA w obu grupach wskazuje na wpływ izoprynozyny na hamowanie odczynu zapalnego.



## ANALIZA FUNKCJI PŁYTEK U KONI Z ZABURZENIAMI ŻOŁĄDKOWO-JELITOWYMI

### ANALYSIS OF PLATELET FUNCTION IN HORSES WITH GASTROINTESTINAL DISORDERS

Alicja Iwaszko-Simonik, Stanisław Graczyk, Aleksandra Pliszcak-Król

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Patofizjologii, Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: alicja.iwaszko@up.wroc.pl

W przebiegu zaburzeń żołądkowo-jelitowych u koni dochodzi często do zmian w układzie hemostazy. Dotychczasowa diagnostyka układu krzepnięcia, opierająca się na oznaczaniu czasów APTT, PT oraz TT, nie zawsze daje jednoznaczne wyniki. Sugeruje się, iż przyczyną zmian zakrzepowo-zatorowych, jak również powikłań krwotocznych w tym okresie, mogą być zaburzenia czynności płytek krwi, które są integralnym elementem hemostazy pierwotnej.

**Cel badań:** Ocena czasu okluzji oraz ocena fenotypowa płytek krwi u koni leczonych z powodu zaburzeń żołądkowo-jelitowych.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 30 koni poddanych chirurgicznemu leczeniu zaburzeń żołądkowo-jelitowych. Grupę kontrolną (20 sztuk) stanowiły konie niewykazujące objawów klinicznych. Materiał do badań stanowiła krew pobierana czterokrotnie: przed przystąpieniem do zabiegu, a następnie w 24., 48. oraz 72. godzinie po operacji. Krew pobraną na 3,8% cytrynian sodu (9:1) wykorzystano do oceny czasu okluzji (aparat PFA-100) oraz do otrzymania osocza bogatopłytkowego (PRP platelet rich plasma). Z PRP przygotowywano zawiesinę, którą aktywowano dodatkiem trombiny, a następnie inkubowano z przeciwciałem monoklonalnym przeciw P-selektynie (anti-CD62P) skoniugowanym z fikoerytryną (PE) (AbD Serotec). Drugą część zawiesiny inkubowano z przeciwciałem przeciw glikoproteinie GP IIb/IIIa (anty-CD 41/61), a następnie z drugim poliklonalnym przeciwciałem (goat anti mouse) IgG<sub>1</sub> skoniugowanym z fluoresceiną (FITC) (AbD Serotec). Ekspresję receptorów powierzchniowych oceniano za pomocą cytometru przepływowego (FACS Calibur, Becton Dickinson).

**Wyniki i omówienie:** U koni w okresie pooperacyjnym wykazano zwiększoną ekspresję receptora CD62P na płytkach krwi, świadczącą o wzmożonej ich aktywności oraz skłonności do formowania się agregatów płytkowo-leukocytarnych, co może stanowić istotny czynnik w patogenezie zmian zakrzepowo-zatorowych. Równocześnie, po początkowo zwiększonej ekspresji receptora CD41/61 nastąpiło stopniowe jej obniżenie, co korelowało z sukcesywnym, ponad dwukrotnym wydłużeniem czasu okluzji, wskazującym na zahamowany proces agregacji. Przeprowadzone badania wskazują na zmianę funkcji płytek krwi u koni w okresie pooperacyjnym, która może być prawdopodobną przyczyną wzrostu ryzyka wystąpienia komplikacji zakrzepowo-zatorowych, jak również pooperacyjnych powikłań krwotocznych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Lalko C., Deppe E., Ulatowski D., Lutgen A., Hart A., Patton E., Lunn D., Suresh M., Darien B., 2003. Equine platelet CD62P (P-selectin) expression: a phenotypic and morphologic study. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 91, 119–134.
- [2] Salat A., Bodingbauer G., Boehm D., Murabito M., Tochkow E., Sautner T., Mueller M.R., Fuegger R., 1999. Changes of platelet surface antigens in patients suffering from abdominal septic shock. *Thrombosis Research*, 95, 289–294.
- [3] Salat A.: Kroess S., Felfernig-Boehm D., Felfernig M., Fleck T., Schmidt D., Pulaki S., Mueller M.R., 2002. Comparison of in vitro closure time (PFA-100) with whole blood electrical aggregometry and platelet surface antigen expression in healthy volunteers. *Thrombosis Research*, 105, 205–208.



## DOŚWIADCZENIA WŁASNE W OBRAZOWANIU REZONANSEM MAGNETYCZNYM NISKOPOLOWYM APARATU TRZESZCZKOWEGO KOPYTA

### CLINICAL EXPERIENCE IN MAGNETIC RESONANCE IMAGING OF NAVICULAR APPARATUS

Marta Jaskólska, Zbigniew Adamiak, Yauheni Zhalniarovich

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chirurgii i Rentgenologii z Kliniką, ul. Oczapowskiego 13, Olsztyn, e-mail: eugeniusz.zolnierowicz@uwm.edu.pl

Syndrom trzeszczkowy jest jednym z najczęściej występujących schorzeń koni użytkowanych w różnych dyscyplinach. Dzięki zastosowaniu rezonansu magnetycznego możliwe stało się poznanie charakteru zmian towarzyszących tej jednostce chorobowej. Oprócz trzeszczki kopytowej, kaletki kopytowej i przyczepu końcowego zginacza palców głębokiego zmiany obejmują także więzadła nieparzyste i więzadła poboczne trzeszczki kopytowej. Żadna z dotychczasowych metod diagnostycznych nie dawała możliwości zobrazowania i dokładnej analizy zmian zarówno tkanek miękkich, jak i kości.

**Cel badań:** Zobrazowanie aparatu trzeszczkowego i ustalenie jednolitego protokołu mogącego posłużyć do diagnostyki koni dotkniętych podotrochleozą.

**Materiał i metody:** Badania miały charakter dwuetapowy. W pierwszej fazie badano kończyny odcięte. Materiał do badań rezonansem magnetycznym stanowiły kończyny koni w różnym wieku i różnej użytkowości, pozyskane świeżo z zakładu ubojowego. Kończyny następnie zostały zamrożone i odmrożone bezpośrednio przed badaniem. Badania przeprowadzono na 15 kończynach. W drugiej fazie badania przeprowadzono u 4 koni, pacjentów klinicznych. W obrazowaniu okolicy trzeszczki kopytowej wykorzystano aparat niskopolowy o natężeniu pola magnetycznego 0,25T

**Wyniki:** Standardowy protokół składał się z sekwencji T1, T2, PD i STIR. Sekwencja T1 i PD służy do zobrazowania szczegółów anatomicznych. Sekwencja T2 przydatna była w poszukiwaniu płynu zapalnego i różnicowaniu intensywności sygnału, zwłaszcza w identyfikacji charakteru zapalnego czy związanego z obecnością tkanki włóknistej. Sekwencje tłumiące tłuszcz STIR przydatne były do obrazowania płynu w obrębie kości i tkanek miękkich. Hiperintensywny sygnał trzeszczki kopytowej w sekwencji STIR może wskazywać na obecność krwiaka, zwiększoną ilość płynu maziowego, martwicę kości, zwłóknienia lub stan zapalny. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono dużą przydatność wizualizacji rezonansem niskopolowym zmian chorobowych trzeszczki kopytowej i okolicznych tkanek miękkich.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Murray R.C., 2007. Magnetic resonance imaging of the equine carpus, *Clinical Techniques in Equine Practice*, 6, 86–95.
- [2] Dyson S., Murray R., 2007. Magnetic resonance imaging of the equine fetlock, *Clinical Techniques in Equine Practice*, 6, 62–77.
- [3] Olive J., D'anjou M., Alexander K., Laverty S., Theoret C., 2010. Comparison of magnetic resonance imaging, computed tomography, and radiography for assessment of noncartilaginous changes in equine metacarpophalangeal osteoarthritis, *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 51, 3, 267–279.
- [4] Gore J.C., Pope C.F., Sostman H.D., 1986. Errors in the assessment of the efficacy of MRI pulse sequences, *Magnetic resonance imaging*, 4, 251–255.



## WŁAŚCIWOŚCI FENOTYPOWE I GENOTYPOWE KRAJOWYCH SZCZEPÓW *RHODOCOCCUS EQUI*

### PHENOTYPIC AND GENOTYPIC PROPERTIES OF POLISH FIELD STRAINS OF *RHODOCOCCUS EQUI*

Marcin Kalinowski, Zbigniew Grądzki, Łukasz Jarosz, Łukasz Adaszek

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: marcin.kalinowski@up.lublin.pl

Rodokokoza jest chorobą zakaźną źrebiąt w wieku do 6. miesiąca życia wywołującą duże straty ekonomiczne w hodowli koni. Bliższe poznanie właściwości szczepów izolowanych w stadninach krajowych może okazać się pomocne przy opracowywaniu nowych strategii swoistej profilaktyki i terapii rodokokozy.

**Cel pracy:** Określenie wybranych właściwości fenotypowych i genotypowych w odniesieniu do 7 szczepów *R. equi* wyizolowanych w stadninach krajowych.

**Materiał i metody:** Badane szczepy wyizolowano w latach 2005–2008 z przypadków padłych źrebiąt, u których badaniami laboratoryjnymi potwierdzono zakażenie *R. equi*. Bezpośrednio po izolacji bakterii na podłożu agarowym z dodatkiem 5% krwi końskiej oraz stałym podłożu wybiórczo-namnażającym NANAT drobnoustroje namnażano w płynnej pożywce LB w temp. 30°C przez 24 godz. Z płynnej hodowli bakterii sporządzano zawiesinę w glicerolu, którą przechowywano w temp. -70°C. Przed wykonaniem oznaczeń wybranych właściwości szczepów zawiesinę glicerolową wysiewano na podłożo agarowe z krwią w celu kontroli żywotności bakterii oraz czystości hodowli. Właściwości biochemiczne wyizolowanych szczepów określano przy użyciu komercyjnych testów firmy BioMerieux, API Coryne i API Zym. Wrażliwość badanych izolatów na wybrane chemioterapeutyki określono metodą dyfuzyjno-krażkową z użyciem stałego podłoża Mueller-Hintona. Do oceny właściwości genotypowych wybrano metodę analizy sekwencji nukleotydowej fragmentu chromosomalnego DNA kodującego podjednostkę 16S rRNA oraz plazmidowego genu *vapA*. Izolację DNA wykonywano metodą trawienia enzymatycznego z użyciem lizozymu i proteinazy K, wspomaganą działaniem detergentu kationowego CTAB. Reakcję PCR wykonywano z użyciem dwóch zestawów starterów, komplementarnych do odnośnych fragmentów genów. Uzyskane produkty PCR poddawano sekwencjonowaniu w Zakładzie Sekwencjonowania i Syntezy DNA Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie. Ustalone sekwencje poddawano analizie z użyciem programu komputerowego Lasergene DNA Star (Madison USA) oraz porównywano z sekwencjami wybranych genów dostępnymi w bazie danych Genbank.

**Wyniki i omówienie:** Wyniki badania właściwości biochemicznych pozwoliły sklasyfikować wszystkie wyizolowane szczepy jako należące do gatunku *Rhodococcus equi* (prawdopodobieństwo w zakresie 93–100%). Pomiędzy szczepami wykazano różnice dotyczące indywidualnych reakcji biochemicznych, które nie wpływały na ostateczną klasyfikację szczepów. Ocena lekooporności wykazała wrażliwość badanych szczepów na erytromycynę, azitromycynę, spiramycynę, claritromycynę, rifampicynę, tetracyklinę, doksycyklinę, gentamycynę, linkomycynę z neomycyną, penicylinę, streptomycynę i amoksycylinę z kwasem klawulanowym. Wykazano oporność szczepów w stosunku do ampicyliny, cefalosporyn, norfloksacyliny i sulfonamidów. Dane te wskazują na brak korelacji pomiędzy wrażliwością *in vitro* *R. equi* na antybiotyki i ich efektywnością w leczeniu zakażonych źrebiąt. Ocena analizy genetycznej badanych szczepów wykazała wysoką homogenność fragmentu genu kodującego podjednostkę 16S rRNA. W przypadku genu *vapA* analiza genetyczna wykazała istnienie różnic pozwalających na wyodrębnienie w grupie badanych szczepów trzech odmian polimorficznych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Giguere S., Prescott J. F., 1997. Clinical manifestations, diagnosis, treatment and prevention of *Rhodococcus equi* infections in foals, *Vet. Microbiol.*, 56, 313–333.





## WPŁYW WYSIŁKU NA STĘŻENIE LEPTYNY WE KRWI KONI SPORTOWYCH I WYŚCIGOWYCH

### EFFECT OF EXERCISE ON PLASMA LEPTIN LEVEL IN SPORT HORSES AND RACE HORSES

Witold Kędziński

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: witold.kedziński@up.lublin.pl

Leptyna jest hormonem białkowym produkowanym w tkance tłuszczowej. Jej poziom odzwierciedla status energetyczny organizmu. Hormon ten, działając głównie na centralny układ nerwowy, powoduje zmniejszenie ilości przyjmowanego pokarmu oraz zwiększenie zużycia energii w tkankach m.in. poprzez podniesienie efektywności spalania kwasów tłuszczowych w wątrobie. Procesy syntezy i wydzielania leptyny są kontrolowane przez wiele czynników, przy czym insulina i glukokortykoidy stymulują, a katecholaminy hamują produkcję leptyny. Podczas wysiłku fizycznego wzrasta wydzielanie katecholamin i glukokortykoidów, a obniża się poziom insuliny. Wypadkowy wpływ tych zmian na wydzielanie leptyny nie został dotychczas jednoznacznie określony. Wydaje się, że istotne znaczenie mają intensywność i czas trwania wysiłku. Ponadto wiadomo, że wysiłek powoduje wzrost aktywności katalitycznej komórek tłuszczowych.

**Cel pracy:** Określenie zmian stężenia leptyny we krwi koni w zależności od intensywności wysiłku.

**Materiał i metody:** Badaniami objęto 2 grupy zwierząt: 12 koni rasy pełna krew angielska trenowanych na torach wyścigów konnych (WYŚ) oraz 14 koni ras szlachetna półkrew i małopolska, przygotowywanych do sportów jeździeckich: skoków i ujeżdżenia (SP). Badania przeprowadzono podczas sesji treningowych charakterystycznych dla danego użytkowania, przy czym konie wyścigowe badano jednokrotnie (n=12), a jeździeckie kilkakrotnie podczas sezonu treningowego (n=36). Materiał do badań stanowiła krew żylna pobierana w spoczynku oraz po zakończeniu sesji treningowej. We krwi pełnej oznaczano stężenie kwasu mlekowego (LA), a w uzyskanym osoczu poziom kwasu moczowego (UA), triacylogliceroli (TG), glicerolu (glic), wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) i białka całkowitego metodami spektrofotometrycznymi oraz zawartość leptyny metodą RIA. Istotność różnic między wynikami uzyskanymi w badanych grupach porównano testem t-Studenta.

**Wyniki i omówienie:** Wysiłek stosowany w treningu wyścigowym odznaczał się większą intensywnością niż wysiłek koni użytkowanych w jeździectwie, co przejawiało się istotnie wyższym wzrostem stężenia LA i UA po wysiłku we krwi koni WYŚ, w porównaniu z SP. Istotnie wyższy był też wzrost poziomu glic, natomiast stężenie WKT rosło w większym stopniu u koni SP niż u WYŚ. Stężenie leptyny w przeliczeniu na poziom białka całkowitego osocza krwi (Lept/b) ulegało istotnemu obniżeniu w grupie WYŚ, w porównaniu z końmi SP. Współczynnik korelacji dla powysiłkowych zmian lept/b i LA, UA oraz glic wynosił odpowiednio: -0,52, -0,60 i -0,51 ( $p < 0,05$ ). Oznacza to, że zmiany stężenia leptyny w osoczu krwi koni były odwrotnie proporcjonalne do intensywności wysiłku oraz do stężenia glic w osoczu krwi. Zawartość glic we krwi odzwierciedla natężenie lipolizy podczas wysiłku. Dotychczas nie opisywano zmian stężenia leptyny w zależności od intensywności wysiłku u trenowanych koni [1, 2].

Poziom leptyny w osoczu krwi ulega obniżeniu podczas intensywnego wysiłku proporcjonalnie do intensywności wysiłku oraz do natężenia lipolizy w tkance tłuszczowej.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Gordon M.E., McKeever K.H., Betros C.L., Manso Filho H.C., 2007. Exercise-induced alternations in plasma concentrations of ghrelin, adiponectin, leptin, glucose, insulin, and cortisol in horses, *Veterinary Journal*, 173, 3, 532–540.
- [2] Piccione G., Bertolucci C., Foa A., Caola G., 2004. Influence of fasting and exercise on the daily rhythm of serum leptin in the horse. *Chronobiology International*, 21, 3, 405–417.



## WYBRANE UWARUNKOWANIA METODYCZNE POMIARÓW CHEMILUMINESCENCJI KRWI PEŁNEJ U KONI

### SELECTED METHODOLOGICAL FACTORS OF CHEMILUMINESCENCE MEASUREMENTS IN EQUINE WHOLE BLOOD

Wiesław Krumrych, Radosław Skórzewski

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Fizjologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, e-mail: wieslaw.krumrych@piwet.pulawy.pl

Badanie chemiluminescencji (CL) krwi pełnej przy użyciu luminometru stanowi szybką i powtarzalną metodę, przydatną w badaniach naukowych oraz diagnostyce klinicznej. Dotychczasowe próby standaryzacji tej metody do oceny potencjału bakteriobójczego neutrofilów dotyczyły głównie komórek ludzkich [2, 3]. Nie zawsze znajdują one jednak zastosowanie w przypadku badań prowadzonych na zwierzętach. Wskazuje na to np. zróżnicowany wpływ czasu przechowywania materiału na wartości CL krwi u różnych gatunków zwierząt hodowlanych [4] i dziko żyjących [5].

**Cel badań:** Ocena wpływu czasu i temperatury przechowywania próbek na wyniki pomiarów chemiluminescencji krwi pełnej u koni.

**Materiał i metody:** Do badań użyto krwi żyłnej pochodzącej od 18 klinicznie zdrowych koni szlachetnej półkrwi (14 klaczy, 3 ogiery i 1 wałach) w wieku od 4 do 11 lat. Chemiluminescencję w próbkach krwi oznaczano po upływie 2, 6, 24, 48, 72, 96 i 120 godzin od jej pobrania. Badania przeprowadzono równolegle w dwóch układach doświadczalnych: krew przechowywana w temp. 4 i 22°C. W próbkach krwi oceniano CL spontaniczną i stymulowaną zajęciem receptora dla fragmentu Fc – przeciwciała i dopełniacza, receptora chemotaktycznego, a także drogą pozareceptorową.

**Wyniki i omówienie:** W trakcie badań stwierdzono spadek wartości CL wraz z czasem przechowywania krwi. Wielkość tej reakcji była zależna od temperatury przechowywania próbek. Istotny spadek wartości CL w próbkach przechowywanych w temp. 22°C stwierdzono po upływie 48 godzin (63,0% wartości początkowej), podczas gdy w próbkach z lodówki (4°C) dopiero po 96 godzinach (52,4% wartości początkowej). Dynamika spadku emisji światła badanych próbek była wyraźnie większa podczas kolejnych oznaczeń. Po 120 godzinach wartości CL wynosiły około 47,0% wartości początkowej w krwi przechowywanej w temp. 4°C oraz zaledwie 10% w próbkach przechowywanych w temperaturze pokojowej. Uważa się, że spadek wartości CL spowodowany jest głównie zmianami w płynności oraz integralności błon biologicznych w wyniku zwiększonego wytwarzania reaktywnych form tlenu [1]. Należy przy tym podkreślić, że przydatność krwi końskiej do oznaczeń CL jest stosunkowo długa. Materiał przechowywany do 24 godzin w temp. 22°C oraz nawet do 48 godzin w temp. 4°C nie wykazuje istotnego spadku spontanicznych i stymulowanych pomiarów CL krwi. Rezultat ten może mieć znaczenie praktyczne, bowiem specyfika badań terenowych zwykle związana jest z koniecznością dostarczenia próbek do laboratorium, a tym samym z upływem często wielu godzin od ich pobrania do przeprowadzenia analiz.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Benbarek H., Deby-Dupont G., Deby C., Mathy-Hartert M., Lamy M., 1996. Experimental model for the study by chemiluminescence of the activation of isolated equine leucocytes. *Res. Vet. Sci.*, 61, 59–64.
- [2] Harber M.J., Topley N., 1986. Factors affecting the measurement of chemiluminescence in stimulated human polymorphonuclear leucocytes. *J. Biolumin. Chemilumin.*, 1, 15–27.
- [3] Lewkowicz P., Lauk-Puchała B., Górańska N., Tchórzowski H., 1999. A standarisation attempt of a measurement method of the whole blood chemiluminescence as a means to estimate human neutrophils functions. *Diagn. Lab.*, 35, 497–510.
- [4] Magnusson U., Holst H., 1998. Assaying granulocyte phagocytosis by chemiluminescence: Effect of storage time and temperature of blood samples. *J. Vet. Med. B*, 45, 217–222.
- [5] Papp Z., Smits J.E.G., 2007. Validation and novel applications of the whole-blood chemiluminescence assay of innate immune function in wild vertebrates and domestic chickens. *J. Wildlife Dis.*, 43, 623–634.



**STATUS PROOKSYDACYJNO-ANTYOKSYDACYJNY KRWI W CHOROBYCH KONI****THE PROOXIDANT-ANTIOXIDANT STATUS OF BLOOD IN DISEASES OF HORSES****Wiesław Krumrych, Janusz Zbylut, Edward Malinowski**

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Fizjologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, e-mail: wieslaw.krumrych@piwet.pulawy.pl*

Reaktywne formy tlenu (RFT) zajmują szczególne miejsce w patomechanizmie chorób przebiegających z zaburzeniami procesów odpornościowych oraz w przewlekłym procesie zapalnym. Wyniki wielu badań wskazują, że zwiększona ilość wolnych rodników, przy niedostatecznym potencjale antyutleniającym, prowadzi do istotnych zmian w funkcjonowaniu komórek i tkanek, co z kolei predysponuje do rozwoju wielu chorób [4]. Jakkolwiek liczba badań poświęconych temu zagadnieniu jest stosunkowo niewielka u koni, niemniej jednak uzyskiwane wyniki potwierdzają związek nadprodukcji RFT z patogenezą, m.in. nawracającą obturacją dróg oddechowych, chronicznym zapaleniem oskrzeli [2], zapaleniem błony śluzowej macicy [3] oraz osteochondrozą [1].

**Cel pracy:** Ocena aktywności wolnorodnikowej neutrofilów oraz potencjału antyoksydacyjnego krwi w przebiegu najczęściej występujących objawów chorobowych u koni.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 47 koniach szlachetnej półkrwi różnej płci, w wieku 3-14 lat, wśród których zdiagnozowano: 19 klaczy z zapaleniem błony śluzowej macicy (I), 7 przypadków nieżytu przewodu pokarmowego z objawami kolki jelitowej (II) oraz 6 koni z objawami infekcji górnych dróg oddechowych (III). Pozostałych, 15 klinicznie zdrowych zwierząt stanowiło grupę kontrolną. Materiał do badań stanowiła krew żylna pobierana zarówno w czasie przebiegu choroby, jak również po upływie 2–3 tygodni od zakończenia terapii. W próbkach krwi oznaczano luminolozależną chemiluminescencję – CL (spontaniczną i stymulowaną) neutrofilów, aktywność głównych enzymów antyoksydacyjnych (dysmutaza ponadtlenkowa – SOD, peroksydaza glutationowa – GPx, katalaza – CAT) oraz całkowity potencjał antyoksydacyjny osocza (TAS).

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone badania wykazały istotnie wyższą aktywność CL krwi (spontaniczną i stymulowaną) u koni grupy I i II aniżeli u zwierząt kontrolnych. Zjawisko to potwierdzono statystycznie również w odniesieniu do wyników uzyskanych u tych zwierząt po leczeniu. Niewielki wzrost CL we krwi koni grupy III nie znalazł odzwierciedlenia w zmianach wartości wskaźników antyoksydacyjnych. Istotnie niższe wartości SOD oraz TAS zarejestrowano u klaczy z objawami zapalenia błony śluzowej macicy aniżeli po leczeniu. Pomimo braku istotnych różnic podobną tendencję stwierdzono w aktywności GPx (także w grupie II). Nie wykazano natomiast istotnego zróżnicowania aktywności CAT u badanych zwierząt. Zwiększone generowanie RFT u chorych koni było prawdopodobnie wynikiem preaktywacji neutrofilów we krwi obwodowej, co w powiązaniu ze spadkiem wartości niektórych wskaźników antyoksydacyjnych (SOD, GPx, TAS), może wskazywać na tzw. stres oksydacyjny w przebiegu stanów zapalnych, niezależnie od ich etiologii i postaci klinicznej [4]. W celu zapobiegania wystąpieniu tego zjawiska zasadne wydaje się zatem wspomaganie ochrony antyoksydacyjnej organizmu poprzez suplementację związków przeciwutleniających (np. witaminy C i E, Se, karoten).

**Piśmiennictwo:**

- [1] Dimock A.N., Siciliano P.D., Wellwarth C.W., 2001. Evidence supporting an increased presence of reactive oxygen species in the diseased equine joint. *Equine Vet. J.*, 32, 439–443.
- [2] Kirschvink N., Smith N., Fiévez L., Bougnet V., Art T., Degand G., Marlin D., Roberts C., Genicot B., Lindsey P., Lekeux P., 2002. Effect of chronic airway inflammation and exercise on pulmonary and systemic antioxidant status of trained and heaves-affected horses. *Equine Vet. J.*, 34 (Suppl.), 563–571.
- [3] Krumrych W., Danek J., 2012. Chemiluminescence of peripheral blood neutrophils in mares with endometritis. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 56, 51–56.
- [4] Lykkesfeldt J., Svendsen O., 2007. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. *Vet. J.*, 173, 502–511.



## BADANIE SKŁADU PIERWIASTKOWEGO WŁOSÓW U KONI Z SYNDROMEM METABOLICZNYM (EMS) Z ZASTOSOWANIEM ELEKTRONOWEJ MIKROSKOPII SKANINGOWEJ Z PRZYSTAWKĄ MIKRORENDGENOWSKĄ (SEM EDX) ORAZ Z UŻYCIEM SPEKTROMETRII ZE WZBUDZENIEM PLAZMOWYM (ICP-OES)

### AN INVESTIGATION OF THE ELEMENTAL COMPOSITION OF HORSE HAIR AFFECTED BY EQUINE METABOLIC SYNDROME (EMS) USING SEM EDX AND ICP-OES

Krzysztof Marycz<sup>1</sup>, Joanna Czogała<sup>1</sup>, Izabela Michalak<sup>3</sup>, Jakub Nicpoń<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Zakład Higieny Zwierząt, Pracownia Mikroskopii Elektronowej, ul. Kozuchowska 5b, 50-375 Wrocław, e-mail: krzysztofmarycz@interia.pl; joannaczogala@gmail.com

<sup>2</sup>Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: nickub@poczta.onet.pl

<sup>3</sup>Politechnika Wrocławska, Wydział Chemiczny, Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych, ul. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław, e-mail: izabela.michalak@pwr.wroc.pl

**Wstęp:** Zespół metaboliczny u koni (EMS, Equine Metabolic Syndrome) jest zaburzeniem, któremu towarzyszą otyłość, insulinooporność i ochwat [1]. Obecnie zarówno leczenie, jak i proces diagnostyczny nie zostały w pełni ustalone. Dotychczasowe metody diagnostyczne, stosowane w przebiegu tego schorzenia, na przykład test wrażliwości na insulinę, mogą stanowić zagrożenie życia i zdrowia dla badanych pacjentów. Analiza pierwiastków śladowych włosów pozwala ocenić stan fizjologiczny organizmu, w związku z tym może stanowić alternatywną, nieinwazyjną metodę w diagnozowaniu EMS [2].

**Cel pracy:** Zbadanie składu pierwiastkowego włosów pobranych od koni z zespołem metabolicznym, z zamierzeniem wprowadzenia tego rodzaju analizy jako przydatnego narzędzia diagnostycznego niezbędnego do oceny przebiegu tej choroby.

**Metody:** Grupę badaną stanowiło siedem koni ze zdiagnozowanym zespołem metabolicznym, natomiast grupę kontrolną – siedem zdrowych koni. W celu zapewnienia wiarygodności pomiarów analizy przeprowadzono za pomocą dwóch niezależnych metod: skaningowej mikroskopii elektronowej w połączeniu z mikrorentgenowską analizą oraz z użyciem spektrometrii ze wzbudzeniem plazmowym.

**Wyniki:** Uzyskane wyniki wykazały różnice w składzie pierwiastkowym włosów koni z zespołem metabolicznym i koni zdrowych. Różnice dotyczyły składu pięciu pierwiastków, tj. wapnia (Ca), cynku (Zn), siarki (S), ołowiu (Pb) oraz kryptonu (Kr). Wykazano również, że skład mineralny włosów koni z zespołem metabolicznym jest podobny do składu pierwiastkowego włosów pochodzących od ludzi z cukrzycą typu II. Wynik ten wskazuje na podobieństwa w przebiegu obu schorzeń.

**Omwienie:** Pierwiastkową analizę włosów koni można uznać za wartościową, nieinwazyjną i wygodną metodę diagnostyczną, stanowiącą istotne uzupełnienie testów stosowanych dotychczasowych przy rozpoznawaniu zespołu metabolicznego.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Frank N., 2010. Equine metabolic syndrome. *Journal of Equine Veterinary Sciences* 29, 259–267.
- [2] Manson P., Zlotkin S., 1985. Hair analysis – a critical review. *Canadian Medical Association Journal* 133, 186–188.



## CZTEROPŁATKOWA ZASTAWKA AORTY ORAZ UBYTEK W PRZEGRODZIE MIĘDZYKOMOROWEJ U KONIA

### QUADRICUSPID AORTIC VALVE AND THE SEPTAL DEFECT IN A HORSE

Katarzyna Michlik, Anna Biazik, Radomir Henklewski, Marta Szmigielska, Urszula Paślawska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: katarzyna.michlik.wet@gmail.com

**Wstęp:** Czteropłatkowa zastawka aorty (ang. quadricuspid aortic valve, QAV) charakteryzuje się obecnością czterech płatków o różnej morfologii. QAV jest zazwyczaj diagnozowana jako pojedyncza wada, ale może występować również jako część wady złożonej. Nie była dotychczas opisywana u koni, w przeciwieństwie do ubytku w przegrodzie międzykomorowej (VSD), który jest najczęściej spotykaną wadą wrodzoną serca u tego gatunku.

**Opis przypadku:** 5-letni koń szlachetnej półkrwi maści gniadej o wadze ok. 430 kg został skierowany do Katedry i Kliniki Chirurgii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu w celu dokonania zabiegu kastracji. Ze względu na stwierdzone osłuchowo szmery sercowe zalecono konsultację kardiologiczną. W ogólnym badaniu klinicznym stwierdzono wychudzenie, tachykardię, szmer holosystoliczny (V<sup>o</sup>/VI), najlepiej słyszalny po prawej stronie w czwartej, a po stronie lewej w trzeciej przestrzeni międzyżebrowej. Obecność VSD zlokalizowanego w części błoniastej przegrody międzykomorowej wskazano, badając konia echokardiograficznie w trybie B-mode. Rozpoznanie zostało potwierdzone badaniem dopplerowskim przeprowadzonym po stronie prawej przy wykorzystaniu zarówno projekcji w osi długiej, jak i krótkiej. Największa zmierzona średnica ubytku wynosiła 1,6 cm, natomiast aorta w czasie późnorozkurczowym miała średnicę 6,8 cm. Echokardiogram w prezentacjach B i M pozwolił na dokładną ocenę budowy serca. Odnotowano powiększenie światła oraz przerost ścian obu komór serca. Towarzyszyła im umiarkowana niedomykalność zastawki aorty oraz zaawansowana niedomykalność trójdzielnia. W krótkiej projekcji naczyniowej stwierdzono obecność czterech płatków zastawki aorty – jednego mniejszego, dwóch średnich tej samej wielkości i jednego większego.

**Omówienie:** Morfologia czteropłatkowej zastawki aorty jest różnorodna. Hurwitz i Roberts dokonali klasyfikacji na siedem typów (a-g) na podstawie względnej wielkości każdego z płatków zastawki półksiężycowatej. Opisany przypadek QAV u konia spełnia kryteria typu d w powyższej klasyfikacji. Dysproporcja w wielkości płatków może skutkować nieprawidłową czynnością zastawki, prowadzącą do włóknistego zgrubienia generującego niekompletną koaptację płatków. Zazwyczaj powoduje to zmiany hemodynamiczne w postaci niedomykalności – od łagodnej do umiarkowanej [2]. Do tej pory nie odnotowano w literaturze przypadku występowania QAV, ani jako wady pojedynczej, ani jako kombinacji z VSD u koni. VSD jest najczęściej diagnozowaną wrodzoną wadą serca u koni, wśród których szczególne predyspozycje wykazują konie arabskie [1]. W medycynie ludzkiej przy obecności QAV oraz towarzyszącej niedomykalności stosuje się walwuloplastykę [1], natomiast przy VSD przeprowadza się zabieg chirurgicznej korekcji lub przezskórne zamknięcie ubytku przy użyciu coila. Do tej pory nie odnotowano u koni pomyślnej próby przezżylnego zamknięcia VSD za pomocą materiałów stosowanych w medycynie ludzkiej. Do samoistnego zamknięcia VSD dochodzi sporadycznie. Odnotowano takie przypadki u źrebiąt, dzieci, psów i kotów. Ponieważ badany koń był już w wieku 5 lat, nie należy raczej brać tej możliwości pod uwagę. Właściciel nie wyraził zgody na podjęcie próby operacyjnego leczenia wady u konia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Hall T.L., Magdesian K.G., Kittleson M.D., 2010. Congenital cardiac defects in neonatal foals: 18 cases (1992–2007). *J. Vet. Intern. Med.*, 24(1), 206–12.
- [2] Tang Y.F., Xu J.B., Han L., Lu F.L., Lang X.L., Song Z.G., Xu Z.Y., 2011. Clinical experience. Congenital quadricuspid aortic valve: analysis of 11 surgical cases. *Chin. Med. J.*, 124(17), 2779–2781.



## WARTOŚCI REFERENCYJNE PARAMETRÓW BIOCHEMICZNYCH SUROWICY KRWI KONIKÓW POLSKICH (*EQUUS CABALLUS GMELINI ANT.*)

### SERUM BIOCHEMICAL REFERENCE VALUES FOR APPARENTLY HEALTHY PRIMITIVE POLISH KONIK HORSE (*EQUUS CABALUS GMELINI ANT.*)

Artur Niedźwiedź, Hieronim Borowicz, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: artur.niedzwiedz@up.wroc.pl

Koniki polskie są jedyną rodzimą, pierwotną rasą koni wywodzącą się bezpośrednio od dzikich tarpanów, które do końca XVIII w. można było spotkać na lesistych obszarach dawnej Polski, Litwy i Prus. Po swoich dzikich przodkach odziedziczyły charakterystyczne myszate umaszczenie, z ciemną pręgą biegnącą przez grzbiet. Charakteryzują się dużą wytrzymałością, odpornością na choroby i łatwością w przystosowaniu się do ciężkich warunków bytowania. Konik polski odznacza się niewielkim wzrostem (średnio 134 cm w kłębie dla klaczy i 135 cm dla ogiera). Średnia masa zarówno klaczy, jak i ogiera to 380 kg. W światowej literaturze jest tylko kilka prac dotyczących tej rasy, skupiających się na zachowaniu zwierząt, brak natomiast prac dotyczących parametrów biochemicznych we krwi.

**Cel pracy:** Zmierzenie i wyznaczenie wartości referencyjnych wybranych parametrów biochemicznych we krwi dorosłych koników polskich.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiła krew żylna pobrana z żyły szyjnej zewnętrznej od koników polskich utrzymywanych w stajniach należących do Państwowej Akademii Nauk, oddział Popielno (n=30) w grudniu 2008 r. oraz od prywatnych hodowców (n=44) w grudniu 2009 r. Do prób zakwalifikowano konie w wieku od 3 do 15 lat, 28 samców i 46 klaczy. Wszystkie konie były poddane badaniu klinicznemu, wraz z uwzględnieniem historii chorób. Parametry z surowicy krwi mierzono za pomocą analizatora Konelab Prime 30 ISE.

**Wyniki i omówienie:** W badaniu uzyskano następujące wyniki: albuminy g/L (34,8 – 41,3) 38,0; aminotransferaza alaninowa U/L (5,6 – 32,7) 19,2; aminotransferaza asparaginianowa U/L (299,7 – 565,6) 432,6; białko całkowite g/L (63,5 – 78,9) 71,2; bilirubina całkowita  $\mu\text{mol/L}$  (8,1 – 15,6) 11,7; mocznik mmol/L (2,2 – 7,3) 4,7; cholesterol mmol/L (2,1 – 3,4) 2,7; fosfataza alkaliczna U/L (123,5 – 308,7) 216,1; fosfor mmol/L (0,9 – 1,5) 1,21; kinaza kreatynowa U/L (161,5 – 488,4) 327,8; kreatynina  $\mu\text{mol/L}$  (100,6 – 170,4) 135,5; magnez mmol/L (0,8 – 1,0) 0,9; trójglicerydy mmol/L (0,0 – 0,3) 0,1; wapń mmol/L (2,8 – 3,2) 3,0; sód mmol/L (138,1 – 144,1) 141,1; potas mmol/L (2,4 – 5,0) 3,7; chlorki mmol/L (95,4 – 102,3) 99,0; lipaza U/L (303,3 – 1143,0) 723,1; glukoza mmol/L (2,7–5,3) 4,0. większość parametrów biochemicznych była zbliżona do wartości referencyjnych dla koni, zaobserwowane jednak nieznaczne różnice. Niektóre są trudne do wyjaśnienia i mogą być związane ze specyficzną rasą tych koni. Wyniki te mogą być wartościami referencyjnymi dla zdrowych dorosłych osobników koników polskich.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Rudek Z., 1982. The karyotype of the primitive East Carpathian horse (*Equus caballus gmelini* Ant.), as revealed by G- and C-banding techniques. Folia Biol. (Krakow), 1982, 30, 139–142.





## WPŁYW TRANSPORTU DROGOWEGO KONI NA WYBRANE ENZYMY ANTYOKSYDACYJNE ERYTROCYTÓW

### THE INFLUENCE OF ROAD TRANSPORT ON ACTIVITIES OF SELECTED ANTIOXIDANTS IN EQUINE ERYTHROCYTES

Artur Niedźwiedź, Hieronim Borowicz, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: artur.niedzwiedz@up.wroc.pl

Podczas transportu koni wiele czynników takich jak załadunek i rozładunek, przebywanie w nowym, obcym miejscu, zmiany warunków klimatycznych, nieregularne żywienie i dostęp do wody wywołuje u koni negatywne reakcje stresowe. Behawioralnymi symptomami stresu są wokalizacja, chęć ucieczki, kopanie czy gryzienie. Transport ma również ogromny wpływ na zmianę ilościową parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi. Stężenie lub aktywność w surowicy takich parametrów jak kwasu mlekowego i kortyzolu, kinazy keratynowej i aminotransferazy asparaginianowej, stosunek neutrofilów do limfocytów wzrastają podczas transportu i trwają jeszcze przez pewien czas po jego zakończeniu. Wzrastają również ilość erytrocytów, wartość hematokrytu, hemoglobiny oraz stężenie białka w osoczu. Jednak istnieje niewiele publikacji dotyczących równowagi oksydacyjno/antyoksydacyjnej. Główną przyczyną powstawania stresu oksydacyjnego podczas transportu jest aktywacja jądrowego czynnika kappa (NFκB), który jest kluczowym czynnikiem transkrypcji genów w procesach fizjologicznych. Aktywacja NFκB wyzwała fosforylację i granulację inhibitorów białek.

**Cel badania:** Przedstawienie wpływu stresu transportowego na wybrane enzymy antyoksydacyjne.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na grupie 60 koni różnych ras, w wieku od 4 do 10 lat. Krew żylna była pobierana z żyły szyjnej zewnętrznej, bezpośrednio przed załadunkiem (I), bezpośrednio po rozładunku (II) i 24 godziny po transporcie (III). Mierzono stężenie hemoglobiny (Hb), aktywność reduktazy glutationowej (GR), peroksydazy glutationowej (GPx) oraz S-transferazy glutationowej (GST).

**Wyniki i omówienie:** W trakcie 1. pobrania średnia aktywność GPx wynosiła 35,9 U/g, następnie nieznacznie się obniżała do poziomu 34,2 U/g, po czym w trakcie 3. pobrania wartość ta była istotnie niższa od wyjściowej i wynosiła 30,4 U/g. Średnia aktywność GR w trakcie 1. pobrania wynosiła 53,7 U/g, po czym doszło do znacznego obniżenia się aktywności tego enzymu do poziomu 39,9 U/g. W trakcie 3. pobrania średnia aktywność enzymu wzrosła w porównaniu z 2. pobraniem i wynosiła 49,8 U/g. Średnia aktywność GST w trakcie 1. pobrania wynosiła 26,75 U/g, po czym obniżyła się do poziomu 22,2 U/g, a następnie zaobserwowano niewielki wzrost w porównaniu z pobraniem 2., do wartości 23,68 U/g.

Spadek aktywności omawianych enzymów może być wykładnikiem wzmożonej produkcji RFT w trakcie transportu zwierząt jako następstwo działającego stresu. Nadmierna produkcja RFT w organizmie prowadzi do upośledzenia syntezy i regeneracji zredukowanego glutationu, czego efektem jest zachwianie homeostazy glutationu i spadek jego ilości oraz dostępności w ustroju. Zachwianie w aktywności opisanych powyżej enzymów, może być jednym z mechanizmów wyjaśniających podatność na infekcje w czasie trwania podróży i po jej zakończeniu.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Stull C.L., 1999. Responses of horses to trailer design, duration, and floor area during commercial transportation to slaughter. *J. Anim. Sci.*, 77, 2925–2933.
- [2] Stull C.L., Rodiek A.V., 2000. Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. *J. Anim. Sci.*, 78, 1458–1466.
- [3] Smith B.L., Jones J.H., Hornof W.J., Miles J.A., Longworth K.E., Willits N.H., 1996. Effects of road transport on indices of stress in horses. *Equine Vet. J.*, 28, 446–454.





## WYSTĘPOWANIE GASTEROFILOZY U KONI Z TERENU POLSKI

### GASTEROPHILUS SPP. INFECTIONS IN HORSES IN POLAND

Artur Niedźwiedź, Hieronim Borowicz, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: artur.niedzwiedz@up.wroc.pl

Gasterofilozę (gzwawicę) koni wywołują owady z rodzaju *Gasterophilus* należące do rzędu dwuskrzydłych (*Diptera*). Atakują one koniowate na całym świecie. Wśród 6 znanych gatunków do najbardziej rozpowszechnionych należą *Gasterophilus intestinalis* oraz *Gasterophilus nasalis*. Do zarażenia dochodzi drogą żołądkowo-jelitową lub poprzez skórę. Formą pasożytniczą są larwy L1, L2 i L3, które w żywicielu przebywają ok. 9–10 miesięcy, a ich oddziaływanie chorobotwórcze zależy od intensywności inwazji. Larwy pierwszego stadium lokalizują się w jamie ustnej, natomiast drugiego oraz trzeciego w różnych odcinkach przewodu pokarmowego, najczęściej jednak w żołądku i dwunastnicy. Niewielka inwazja larw przebiega zazwyczaj bezobjawowo, podczas gdy duża liczba pasożytów może być przyczyną upośledzenia czynności gruczołowej żołądka, uszkodzeń i owrzodzeń jego śluzówki oraz innych odcinków przewodu pokarmowego. W przebiegu masywnych inwazji obserwuje się również objawy morzyskowe, niedokrwistości i postępujące wychudzenie. Objawy chorobowe wywoływane przez larwy pasożytów nie są patognomiczne, a ich diagnostyka w terenie jest utrudniona.

**Cel pracy:** Określenie występowania larw *Gasterophilus spp.* u koni z terenu Polski.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły żołądki 400 koni zimnokrwistych, które zostały podane ubojowi w MZK Rawicz w okresie od listopada do grudnia 2010 r. Po uboju żołądki były badane w pomieszczeniach jelicarni. Ich nacięcie przebiegało wzdłuż krzywizny dużej, następnie przepłukiwano je wodą i badano pod kątem występowania larw *Gasterophilus spp.* Oceniano występowanie, lokalizację, nasilenie inwazji oraz gatunek gzów. Wszystkie larwy umieszczano w 10% roztworze formaliny. Nasilenie obecności larw gzów było oceniane według trzystopniowej skali. W laboratorium oceniano i liczono larwy (L-2 i L-3) według klucza opisanego przez Pfister [1996].

**Wyniki i omówienie:** Larwy gzów *Gasterophilus spp.* obecne były w żołądkach 188 koni (47%). Najczęściej występującym gzem był *Gasterophilus intestinalis* (98,75%), a następnie *G. nasalis* (1,25%). Klacze były częściej zakażone niż ogiery i wałachy ( $p < 0,011$ ). Nie wykazano żadnych istotnych statystycznie różnic co do występowania zmian poszczególnych stopni. Niski stopień inwazji występował u 124 koni (31%), średni u 140 (35%) i wysoki u 136 (34%). Najczęściej występowały larwy trzeciego stadium (74%), larwy drugiego stadium znaleziono u 26% koni. W 60% larwy lokalizowały się w części bezgruczołowej w okolicy brzegu strzępiastego, 35% również w części bezgruczołowej, ale nie przy brzegu strzępiastym i tylko 5% w części gruczołowej. Występowanie larw gzów u koni zimnokrwistych z terenu Polski jest zbliżone do wyników uzyskanych w Belgii (58%) i Wielkiej Brytanii (58%), ale jest zdecydowanie większe niż w Niemczech (9%), Szwecji (12%), Izraelu (12%) czy Francji (34%) (Agneessens 1998, Edwards 1982, Bernard 1994, Hoglund 1997, Cirak 1996, Hatch 1976). Te różnice tłumaczone mogą być przeprowadzanymi zabiegami odrobaczenia oraz wpływem klimatu na przeżywalność pasożytów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Agneessens J., Engelen S., Debever P., Vercruyse J., 1998. *Gasterophilus intestinalis* infections in horses in Belgium. *Vet. Parasitol.*, 77, 199–204.



## WYSTĘPOWANIE OWRZODZEŃ ŻOŁĄDKA U KONI REKREACYJNYCH Z TERENU POLSKI

### PREVALENCE OF GASTRIC ULCERS IN PLEASURE HORSES IN POLAND

Artur Niedźwiedź, Hieronim Borowicz, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: artur.niedzwiedz@up.wroc.pl

Wrzody żołądka u koni (*equine gastric ulcers syndrome*) stanowią bardzo poważny problem w patologii koni. Badania wykazały, że zmiany o charakterze wrzodów występują zarówno u źrebiąt (25–50%), jak i koni dorosłych (50–80%). Specyficzna budowa żołądka u konia oraz innych jednokopytnych wybitnie predysponuje je do pojawienia się zmian o charakterze wrzodów. Część bezgruczołowa przyległa do wpustu pokryta jest nabłonkiem wielowarstwowym płaskim i stanowi coś w rodzaju przedłużenia przełyku. Obszar jaki zajmuje część bezgruczołowa, stanowi ok. 30% ogólnej powierzchni żołądka, a pozostała jego część pokryta jest nabłonkiem gruczołowym, którego zadaniem jest sekrecja śluzu, kwasu solnego oraz pepsyny. Fizjologia czynności wydzielniczej żołądka, a w szczególności jej zaburzenia, mają znaczący wpływ na etiologię i patogenezę wrzodów żołądka u koni. Sok żołądkowy wykazuje bardzo niskie pH i w jego skład wchodzi głównie kwas solny oraz pepsyna (czynniki „agresywne”). Czynnikiem działającym protekcyjnie na tę część przewodu pokarmowego są śluz i dwuwęglany (czynniki „ochronne”). Jako główne czynniki ryzyka zwiększające prawdopodobieństwo wystąpienia wrzodów żołądka wymienia się: intensywny wysiłek, nieregularne i nieprawidłowe żywienie, stres związany z otoczeniem lub sytuacjami oraz nadmierne stosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NSLPZ).

**Cel pracy:** Retrospektywna ocena częstości występowania wrzodów żołądka i ich lokalizacja w badaniu gastroskopowym w grupie koni rekreacyjnych.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w okresie od 2006 do 2011 r. na grupie 108 koni w Klinice Koni, Psów i Kotów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Konie były w wieku od 4 do 10 lat. Przeprowadzono 16-godzinną głodówkę przed badaniem. Konie miały założoną dudkę i były poddane sedacji przy użyciu detomidyny (0,02 mg/kg). Badanie wykonywano przy użyciu wideogastroskopu Karl Storz o długości 3,25 m. Występowanie ilości zmian jak i ich intensywność oceniano według czterostopniowej skali.

**Wyniki i omówienie:** Większość koni (52%) nie wykazywała żadnych zmian w obrębie całej błony śluzowej żołądka. Zmiany wrzodowe wykryto u 52 koni (48%). Liczba zmian w obu częściach żołądka wynosiła: I: 9 (9%), II: 11 (10%), III: 15 (13%), IV: 17 (16%). W okolicy brzegu strzępiatego zmiany wrzodowe lokalizowały się najczęściej: 0: 32 (30%), I: 15 (13%), II: 23 (22%), III: 30 (27%), IV: 8 (8%). Nie było istotnych statystycznie różnic ( $P=0,91$ ) pomiędzy występowaniem zmian w części bezgruczołowej i gruczołowej. Zmiany wrzodowe występowały u znacznej liczby koni (48%). Ten wynik jest relatywnie niższy w porównaniu z końmi sportowymi, u których zmiany występują od 86 do 88,3% [1]. Nasz wynik jest relatywnie większy niż wynik Sandin 2000, gdzie zmiany zaobserwowano tylko u 7% badanych koni. Wydaje się, że główną przyczyną występowania zmian u badanych przez nas koni było nieodpowiednie i nieregularne żywienie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Begg L.M., 2003. O'Sullivan CB: The prevalence and distribution of gastric ulceration in 345 racehorses. Aust. Vet. J., 81, 199–201.



## OCENA PRZEŻYWALNOŚCI OOCYTÓW KLACZY I KROWY PO HODOWLI *IN VITRO* I WITRYFIKACJI METODĄ RAPID-I

### EVALUATION THE SURVIVAL RATE OF EQUINE AND CATTLE OOCYTES AFTER IN VITRO MATURATION AND VITRIFICATION USING RAPID-I METHOD

Agnieszka Nowak, Joanna Kochan, Adam Okólski, Marta Barańska

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Rozrodu i Anatomii Zwierząt, Al. Mickiewicza 24/28, 31-120 Kraków, e-mail: nowak.a.a@gmail.com

Witryfikacja komórek jajowych to proces szybkiego zamrażania, pozwalający na długotrwałe przechowywanie z zachowaniem wartości biologicznej materiału. Witryfikacja umożliwia wykorzystanie oocytów po rozmrożeniu w dowolnym terminie do procedur zapłodnienia *in vitro*.

**Cel pracy:** Określenie żywotności oocytów klaczy i krowy poddanych hodowli *in vitro* i witryfikowanych metodą Rapid-i.

**Materiał i metody:** Oocyty do badań pozyskano poubojowo metodą łyżeczkowania (klacz) lub dyssekcji jajnika (krowa). Po hodowli *in vitro* oocyty oczyszczano z komórek ziarnistych i ekwilibrowano 10 min w 20% roztworze glicerolu w temperaturze pokojowej. Następnie przenoszono je do mieszaniny witryfikacyjnej (ficoll 18%, glicerol 40%, sacharoza 0,3M) i w ciągu 30 sek. umieszczano w niewielkiej kropli mieszaniny witryfikacyjnej (<0,1 µl) na polipropylenowej bagietce, którą umieszczano w osłonce zanurzonej w ciekłym azocie. Po rozmrożeniu przeżywalność oocytów określano po wybarwieniu dioctanem fluoresceiny (FDA) i bromkiem etydy (EtBr). Oocyty wykazujące mocną zieloną fluorescencję klasyfikowano jako żywe, a oocyty wykazujące czerwonopomarańczową fluorescencję jako martwe, z uszkodzoną oolemmą.

**Wyniki i omówienie:** W grupie doświadczalnej spośród 45 oocytów klaczy poddanych witryfikacji po hodowli *in vitro* 25 (55,5%) wykazywało zieloną fluorescencję, natomiast 20 oocytów (44,5%) zakwalifikowano jako „martwe”. W stosunku do grupy kontrolnej, gdzie spośród 40 oocytów klaczy po hodowli *in vitro* 72,5% wykazywało zieloną fluorescencję, wynik ten był dużo słabszy.

W przypadku 44 oocytów krowy poddanych witryfikacji, 28 oocytów (63,6%) wykazywało zieloną fluorescencję, natomiast 16 oocytów (36,4%) sklasyfikowano jako „martwe” po witryfikacji. Procent żywotności oocytów krowy po witryfikacji, w stosunku do grupy kontrolnej, był słabszy (81,8 % oocytów żywych w grupie kontrolnej), natomiast był wyższy niż w analogicznej grupie witryfikowanych oocytów klaczy. Witryfikacja oocytów po hodowli *in vitro* metodą Rapid-i z wykorzystaniem minimalnej ilości mieszaniny witryfikacyjnej pozwala na uzyskanie dobrych rezultatów zamrażania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Hochi S., Kozawa M., Fujimoto T., Hondo E., Yamada J., Oguri N., 1996. In vitro maturation and transmission electron microscopic observation of horse oocytes after vitrification. *Cryobiology*, 33(3), 300–310.
- [2] Hurt A., Landim-Alvarenga F., Scidel G. Jr., Squires L., 2000. Vitrification of immature and mature equine and bovine oocytes in an ethylene glycol, ficoll and sucrose solution using open pulled straws. *Theriogenology*, 54(1), 119–128.
- [3] Tharasanit T., Colenbrander B., Stout T.A., 2006. Effect of maturation stage at cryopreservation on post-thaw cytoskeleton quality and fertilizability of equine oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, 73(5), 627–637.



## EKSTERIER KLACZY KONIKA POLSKIEGO W ŚWIETLE ANALIZ WIELOWYMIAROWYCH

### EXTERIOR OF POLISH KONIK MARES IN VIEW OF MULTIDIMENSIONAL ANALYSES

Edyta Pasicka<sup>1,2</sup>, Henryk Geringer de Oedenberg<sup>2</sup>, Aleksander Chrószcz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, Zakład Anatomii Zwierząt, ul. Kozuchowska 1/3, 51-631 Wrocław, e-mail: edyta.pasicka@yahoo.com

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Zakład Hodowli Koni i Jeździectwa, ul. Kozuchowska 5a, 51-631 Wrocław

Rasa konik polski jest jedną z młodszych ras koni opisanych i oficjalnie zarejestrowanych w Polsce, której hodowla jest rdzennie polska. Omawiana rasa stanowi wartościową rezerwę genetyczną z uwagi na unikalne cechy eksterierowe oraz niepowtarzalne u innych ras koni predyspozycje adaptacyjne do różnych zmian środowiska przyrodniczego. Wyróżniające dla omawianej rasy są dwa odmienne systemy chowu: stajenny i rezerwatowy oraz liczne zalety użytkowe związane z przystosowaniem do lokalnych warunków środowiska, tj.: zachowanie stadne silnie zaznaczone u koni rezerwatowych, niewielkie wymagania w stosunku do warunków utrzymania, dobre wykorzystanie paszy o niskiej jakości, bardzo dobre wskaźniki rozrodu, mocna konstytucja oraz proporcjonalnie duża w stosunku do masy ciała siła pociągowa. Koniki polskie powszechnie uznawane są za rasę o wyrównanym morfotypie, choć niektórzy autorzy zwracają uwagę na ich postępujące zróżnicowanie pod względem typu i pokroju. Ponieważ w hodowli koników polskich dąży się do podtrzymania cech pierwotnych, m.in. tych związanych z pokrojem, ściśle przestrzegane są ustalenia odnośnie wzorca biometrycznego dla tej rasy.

**Cel pracy:** Wyodrębnienie cech metrycznych klaczy konika polskiego najsilniej związanych z eksterierem na podstawie statystycznych analiz wielowymiarowych: analizy składowych głównych, analizy czynnikowej i analizy dyskryminacyjnej oraz wykazanie zróżnicowania cech metrycznych analizowanych klaczy w obrębie trzech grup wiekowych.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto populację zarodową klaczy rasy konik polski pochodzącą z pięciu wiodących ośrodków stajennej hodowli zachowawczej konika polskiego w Polsce. Ośrodkami tymi były: Stacja Badawcza Rolnictwa Ekologicznego i Hodowli Zachowawczej Zwierząt PAN w Popielnie (woj. warmińsko-mazurskie), Roztoczański Park Narodowy w Zwierzyńcu (woj. lubelskie), Stado Ogierów Sieraków Wlkp. Sp. z o. o. (woj. wielkopolskie), Stadnina Koni w Dobrzyniewie Sp. z o. o. (woj. wielkopolskie) oraz Poznańska Hodowla Roślin Sp. z o. o. – Oddział w Kobylnikach (woj. wielkopolskie). Pomiarom morfometrycznym poddano 126 klaczy. Klacze zróżnicowano według grup wiekowych: grupa młodsza (3–5 lat) N = 50; grupa średnia (6–9 lat) N = 50 i grupa starsza (10 ≥ lat) N = 26. W celu opisanie eksterieru klaczy koników polskich dla każdego konia wykonano pomiary 40 cech metrycznych.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie analizy składowych głównych i analizy czynnikowej wykazano zróżnicowanie eksterieru klaczy w obrębie rozpatrywanych cech metrycznych. Stwierdzono, że na dyskryminację w morfotypach współczesnych klaczy konika polskiego mają statystyczny wpływ cechy takie jak: długość szyi dobrzuszna, obwód przedramienia, długość od wcięcia naczyń twarzowych do kąta pyska, wysokość puszki kopytowej kończyny piersiowej, obwód klatki piersiowej i szerokość miednicy. Ponadto udowodniono statystycznie, na podstawie analizy dyskryminacyjnej krokowej postępującej, różnice w średnich wartościach analizowanych cech pomiędzy grupami wiekowymi omawianej populacji klaczy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Pasicka E., 2010. Analiza parametrów morfometrycznych koników polskich chowanych systemem stajennym w ośrodkach hodowli zachowawczej na terenie Polski. Rozprawa doktorska.



## IZOLACJA HERPEWIRUSA KONI TYP 4 (EHV4) Z PRZYPADKÓW KLINICZNYCH ZACHOROWAŃ KONI

### ISOLATION OF EQUINE HERPESVIRUS 4 (EHV4) FROM HORSES WITH RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Gabor Płoszay, Jerzy Rola

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: gabor.ploszay@piwet.pulawy.pl

Herpeswirusy EHV1 i EHV4 należą do najważniejszych czynników zakaźnych koni. Występują one powszechnie w populacji koni na całym świecie. EHV1 odpowiedzialny jest głównie za poronienia u ciężarnych klaczy, zejścia śmiertelne wśród nowo narodzonych źrebiąt, zakażenia układu oddechowego oraz zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego (EHM). Z kolei EHV4 to główna przyczyna zapalenia jamy nosowej i płuc koni (rhinopneumonitis). Choroba występuje głównie u koni młodych, w wieku poniżej 2 lat, a współczynnik zachorowalności może dochodzić do 100%. U koni chorych stwierdza się gorączkę, osłabienie, utratę apetytu oraz surowiczo-śluzowy wypływ z nosa. Często u koni takich dochodzi do wtórnych zakażeń bakteryjnych. Chore zwierzęta wyłączone są z treningu, a koszty związane z leczeniem i rekonwalescencją są przyczyną poważnych strat ekonomicznych.

**Materiał i metody:** Do badań z wykorzystaniem multiplex PCR użyto 19 próbek wymazów z nosa pobranych od koni podejrzanych o zakażenie herpeswirusami. Próbkę te pochodziły z dwóch stadnin koni znajdujących się na terenie woj. lubelskiego. Zachorowania wystąpiły u koni młodych w wieku 6–12 miesięcy, u których obserwowano: surowiczy wypływ z nosa, zaczerwienienie spojówek, apatię, brak apetytu. Ekstrakcję DNA przeprowadzono, stosując proteinazę K i 10% SDS, a do oczyszczania użyto mieszaniny fenol: chloroform: alkohol izoamylowy. Startery użyte do amplifikacji DNA były specyficzne dla glikoproteiny B wirusów EHV1 i EHV4 (1). Zarówno na etapie ekstrakcji, jak i amplifikacji DNA stosowano kontrolę dodatnią (EHV1 – szczep Ab-4 i EHV4 – szczep 405/76) oraz ujemną (woda DEPC). Próbek dodatnich w teście PCR użyto do izolacji wirusa w hodowli komórek VERO. Jeśli stwierdzono wystąpienie efektu cytopatycznego, hodowle barwiono fioletem krystalicznym, a pozyskany supernatant sprawdzano na obecność DNA EHV4 testem PCR. Jako kontrolę dodatnią w teście izolacji stosowano szczep referencyjny 405/76 wirusa EHV4.

**Wyniki i omówienie:** Spośród 19 próbek wymazów pobranych od koni z objawami zakażenia układu oddechowego wynik dodatni w teście PCR stwierdzono w 11 próbkach. Na żelu agarozowym w miejscach tych widoczny był prążek specyficzny dla EHV4 wielkości 943 pz. Wymazów dodatnich w PCR użyto do zakażenia hodowli komórkowych w celu izolacji wirusa. Efekt cytopatyczny świadczący o obecności wirusa stwierdzono w 3 próbkach. Wyizolowane szczepy zachowano do dalszych badań.

Przedstawione wyniki potwierdziły występowanie EHV4 w populacji koni w Polsce, chociaż w krajowym piśmiennictwie weterynaryjnym rzadko opisywano przypadki zakażenia koni wirusem EHV4. Ponadto wyizolowano terenowe szczepy EHV4 i wykazano, że zastosowany test multiplex PCR umożliwił wykrywanie oraz różnicowanie wirusów EHV1 i EHV4.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kirisawa R., Endo A., Iwai H., Kawakami Y., 1993. Detection and identification of equine herpesvirus-1 and -4 by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 36, 57–67.





## DIAGNOZOWANIE ABIOTROFII MÓZDŻKU U KONIA CZYSTEJ KRWI ARABSKIEJ Z WYKORZYSTANIEM METOD REZONANSU MAGNETYCZNEGO

### DIAGNOSING CEREBELLUM ABIOTROPHY IN ARABIAN MARE USING MAGNETIC RESONANCE METHODS

Andrzej Pomianowski, Zbigniew Adamiak, Michał Wieteska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, Olsztyn, ul. Oczapowskiego 14, e-mail: [michalwietes@wp.pl](mailto:michalwietes@wp.pl)

Abiotrofia jest patologicznym procesem polegającym na przedwczesnej śmierci neuronów wywołanej przez przerwanie procesów metabolicznych koniecznych do utrzymania funkcji życiowych komórek nerwowych. Abiotrofia mózdzku jest genetycznie uwarunkowaną chorobą, charakteryzującą się postępującym obumieraniem komórek Purkiniego, zaczynającym się zaraz po urodzeniu. Wynikiem zmian strukturalnych w obrębie kory mózdzku są objawy niezborności mózdzkowej charakteryzującej się zaburzeniami równowagi ze zbyt obszernym wykrokiem kończyn piersiowych, chwianiem się i drżeniem namiarowym głowy.

**Cel badań:** Przyżyciowe zdiagnozowanie abiotrofii mózdzku z wykorzystaniem metod rezonansu magnetycznego oraz lepsze poznanie patogenezy procesów patologicznych.

**Materiał i metody:** W Klinice Chorób Wewnętrznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Olsztynie przyjęto klacz rasy arabskiej w wieku trzech lat. Właściciel zwierzęcia zaobserwował już dwa miesiące po urodzeniu objawy niezborności chodu i drżenia głowy, nasilające się przy przyjmowaniu pokarmu. Badaniem neurologicznym stwierdzono brak reakcji na grożenie z lewej i prawej strony. Obserwowano również lewostronne objawy porażenia nerwu twarzowego manifestujące się opadnięciem dolnej wargi i brakiem odruchu powiekowego. W czasie oceny chodu stwierdzono drugi stopień niezborności, według skali zaproponowanej przez Mayhew. Chód charakteryzował się zbyt obszernym wykrokiem kończyn piersiowych, chwianie się oraz ruchy pionowe głową były nasilone podczas ruchu do tyłu i wykonywania ciasnych skrętów. Badanie rezonansem magnetycznym wykonano aparatem VET GRANDE Easote 0,25 Tesla. Koń był ułożony w pozycji bocznej na specjalistycznym stole wykonanym z materiałów nieferromagnetycznych. Wykonano skanowanie mózgu w płaszczyznach strzałkowej i grzbietowej w czasach relaksacji T1 i T2, z wykorzystaniem sekwencji XBONE oraz SE (spin echo).

**Wyniki dyskusji:** Wykonanie badania głowy konia rezonansem magnetycznym jest wartościową metodą pozwalającą na rozpoznanie chorób ośrodkowego układu nerwowego. W porównaniu z tomografią komputerową daje większe możliwości uwidocznienia szczegółów anatomicznych tkanki nerwowej. Wskazaniem do badania rezonansem magnetycznym są wszystkie schorzenia układu nerwowego, które powodują zmiany strukturalne mózgu, rdzenia lub opon mózgowo-rdzeniowych. Jednakże wiedza na temat zastosowania zaawansowanych technik obrazowania w neurodiagnostyce u koni wśród klinicystów weterynaryjnych jest ograniczona. Związane jest to oczywiście z małą dostępnością specjalistycznej aparatury, co znajduje swoje odzwierciedlenie w dostępnym piśmiennictwie. Prezentowany przypadek własny przedstawia obraz abiotrofii mózdzku u konia dorosłego uzyskany tą metodą, co pozwala na potwierdzenie przyżyciowe tej choroby oraz umożliwia lepsze poznanie patogenezy i procesów patologicznych. Ewidentnie widoczne zaniki kory mózdzku wraz ze znacznym zwiększeniem przestrzeni wypełnionych płynem mózgowo-rdzeniowym w obrębie dołu tylnego czaszki dają podstawę postawienia rozpoznania abiotrofii mózdzku i wykluczenia innych strukturalnych chorób mózdzku.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Mayhew I.G., 1989. Neurologic evaluation. Large Animal Neurology. Mayhew I.G., Lea & Febinger Philadelphia, PA, 15–47.
- [2] Pongratz M.C., Kircher P., Lang J., Hilbe M., Wehrli Eser M., 2010. Diagnostic evaluation of a foal with cerebellar abiotrophy using magnetic resonance imaging (MRI). *Pferdeheilkunde*, 26(4), 559–562.



## WSKAŹNIKI RÓWNOWAGI KWASOWO-ZASADOWEJ I OBRAZ CYTOLOGICZNY ŚLUZU OSKRZELOWEGO KONI W RÓŻNYCH WARUNKACH ŚRODOWISKOWYCH

### ACID-BASE PARAMETERS AND BRONCHAL MUCUS CYTOLOGY OF HORSES IN DIFFERENT ENVIRONMENTAL CONDITIONS

Artur Stopyra<sup>1</sup>, Agnieszka Kwiatkowska-Stenzel<sup>1</sup>, Anita Procajto<sup>2</sup>, Przemysław Sobiech<sup>1</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, astopyra@uwm.edu.pl

<sup>1</sup>Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska

Główną przyczyną rozwoju przewlekłej obturacji płuc koni (RAO) jest reakcja uczuleniowa na alergeny obecne w kurzu stajennym. Sprzyja temu także drażniące działanie gazów [2]. Amoniak ( $\text{NH}_3$ ) jest jednym z najbardziej niebezpiecznych gazów występujących w powietrzu stajni, mogącym wywoływać uszkodzenie górnych dróg oddechowych. Dwutlenek węgla w dużych stężeniach (powyżej 4–5%) może być szkodliwy dla zwierząt i ludzi, a przekroczenie wartości dopuszczalnej tego gazu (3000 ppm) jest wskaźnikiem wadliwego działania systemu wentylacji. Wdychany ditlenek azotu ( $\text{NO}_2$ ) może doprowadzić do trwałego uszkodzenia mięszu płucnego, prowadząc do obrzęku i rozedmy płuc. Zapylenie i zawartość gazów w powietrzu stajni zależą od sprawności wentylacji oraz rodzaju i jakości podłoża (ściółki) [3].

**Cel badań:** Określenie wpływu różnych rodzajów ściółki (o różnej chłonności i pylistości) na wybrane parametry jakościowe powietrza stajennego oraz czynność układu oddechowego koni i wymianę gazową w płucach.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w stajni utrzymującej konie rekreacyjno-sportowe, nie wykazujące objawów patologicznych ze strony układu oddechowego. Podczas badań stosowano trzy rodzaje ściółek – słomę oraz dwie ściółki alternatywne. Pomiar mikroklimatek obejmowały określenie stopnia zapylenia powietrza frakcjami pyłów respirabilnych ( $< 5 \mu\text{m}$ ), zawartości 3 domieszek gazowych – dwutlenku węgla ( $\text{CO}_2$ ), amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) oraz ditlenku azotu ( $\text{NO}_2$ ). Próby powietrza pobierano 1., 5. i 7. dnia stosowania ściółki 3 razy dziennie (o 4:00, 13:00 i 21:00). Badanie kliniczne koni, endoskopię układu oddechowego z oceną ilości śluzu oraz pobranie krwi tętniczej w celu oznaczenia wybranych parametrów gazometrycznych ( $\text{pCO}_2$ ,  $\text{pO}_2$ ,  $\text{O}_2\text{SAT}$ ) wykonywano każdorazowo po 7 dniach przebywania koni na badanym rodzaju podłoża.

**Wyniki i omówienie:** Ściółka ze słomy charakteryzowała się średnim zapyleniem środowiska i zawartością  $\text{CO}_2$  w stosunku do pozostałych dwóch materiałów ściółkowych, odpowiadało jej natomiast najwyższe stężenie  $\text{NH}_3$  i  $\text{NO}_2$  w powietrzu. Ściółka nr I charakteryzowała się najniższym stopniem zapylenia i odpowiadającą jej największą zawartością  $\text{CO}_2$  z jednoczesną minimalną ilością  $\text{NO}_2$  w atmosferze stajni. Ściółce II, o największej pylistości, towarzyszyła najniższa ilość  $\text{CO}_2$  i  $\text{NH}_3$  w powietrzu. Wskaźniki kliniczne, gazometryczne krwi tętniczej badanych koni nie wykazywały różnic statystycznie istotnych. W porównaniu ze słomą ściółka I wywołała zmniejszenie liczby oddechów, ilości śluzu w tchawicy i oskrzelach ze zmniejszeniem liczby składników komórkowych. Minimalne ilości śluzu z najmniejszą komponentą komórkową zaobserwowano u koni utrzymywanych na podłożu II, które charakteryzowało się największą pylistością i chłonnością gazów. Uzyskane wyniki wskazują na znaczną rolę gazów obecnych w stajni na stan układu oddechowego koni.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Elfman L., Brannstrom J., Smedje G., 2008. Detection of horse allergen around a stable, Internat. Arch. Allerg. Immun., 145, 4, 269–276.
- [2] Pirie R.S., Collie D.D.S., Dixon P.M., McGorum B.C., 2003. Inhaled endotoxin and organic dust particulates have synergistic proinflammatory effects in equine heaves (organic dust-induced asthma), Clin. Exper. Allerg., 33, 5, 676–683.
- [3] Riihimäki M., Raine A., Elfman L., Pringle J., 2008. Markers of respiratory inflammation in horses in relation to seasonal changes in air quality in a conventional racing stable, Can. J. Vet. Res., 72(5), 432–439.
- [4] Tremblay G.M., Ferland C., Lapointe J.M., Vrins A., Lavoie J.P., Cormier Y., 1993. Effect of stabling on bronchoalveolar cells obtained from normal and COPD horses, Eq. Vet. J., 25(3), 194–197.



## ACETYLOCYSTEINA W TERAPII KONI Z RAO

### ACETYLCYSTEINE IN THE MANAGEMENT OF EQUINE RAO

Artur Stopyra, Justyna Radwińska, Anna Snarska, Katarzyna Żarczyńska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, e-mail: astopyra@uwm.edu.pl

Nawracająca choroba obturacyjna płuc koni (ang. RAO) jest częstym problemem w weterynaryjnej praktyce hipiatrycznej. W jej patogenezie dużą rolę odgrywa zaburzenie wentylacji płuc na tle zwiększenia produkcji i lepkości śluzu oskrzelowego, stąd zastosowanie preparatów mukolitycznych w terapii RAO przyspiesza osiągnięcie poprawy zdrowia koni [4]. Jednym ze skuteczniejszych leków tego typu jest n-acetylocysteina (NAC). Ma ona zdolność rozszczepiania mostków dwusiarczkowych, co prowadzi do depolimeryzacji mucyny a przez to zmniejszenia lepkości śluzu oskrzelowego bez zwiększania jego objętości. Poza tym wykazuje ona właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne, pobudza czynność nabłonka rzęskowego układu oddechowego [1, 3].

**Cel badań:** Ocena poprawy stanu klinicznego i wskaźników gazometrycznych krwi koni z rozpoznaniem RAO po zastosowaniu acetylocysteiny w postaci inhalacji.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiło 26 koni z rozpozną RAO (wywiad, objawy kliniczne, cytologia BALF, gazometria krwi tętniczej). Postępowanie terapeutyczne polegało na minimalizacji ekspozycji na alergeny i substancje drażniące w powietrzu. Zastosowano dexametazon (i.v. 0,04–0,05 mg/kg m.c./48 h), bromek ipratropium wziewnie 90–180µg/zw., bromheksynę (i.m. 35–40 mg/konia) i inhalacje z 60 ml NaCl 0,9% 2 razy dziennie. Koniom z grupy doświadczalnej (16 szt.) do każdej inhalacji dodawano acetylocysteinę (1–1,5 g/zwierzę). Ocenę stanu klinicznego, endoskopowe badanie ilości i jakości śluzu w tchawicy i oskrzelach oraz uzyskanej krwi tętniczej przeprowadzono przed podjęciem terapii, po 6 i 14 dniach leczenia. Wskaźniki gazometryczne oznaczano za pomocą analizatora Rapidlab 348.

**Wyniki i omówienie:** Zastosowane leczenie polepszyło wskaźniki kliniczne i gazometryczne koni z obu grup. Dodatek ACC do inhalacji zmienił wybrane parametry gazometryczne krwi tętniczej oraz spowodował szybsze i głębsze polepszenie stanu klinicznego koni w porównaniu ze zwierzętami, które nie otrzymały ACC. Stwierdzono istotny wzrost pH krwi tętniczej, ciśnienia parcjalnego tlenu, wskaźnika BE i saturacji krwi tlenem. Obniżyło się natomiast ciśnienie parcjalne dwutlenku węgla. Zaobserwowano zmniejszenie duszności, spadek liczby oddechów i ich pogłębienie oraz znaczące zmniejszenie ilości śluzu w tchawicy i oskrzelach w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej. Zaobserwowane różnice w wynikach laboratoryjnych i obserwacjach klinicznych między końmi z objawami RAO, leczonymi tradycyjnie i z zastosowaniem acetylocysteiny, pozwalają stwierdzić, że ACC poprzez zmniejszenie lepkości śluzu ułatwia jego ewakuację z drzewa oskrzelowego znacząco zmniejszając duszność i poprawia wymianę gazową w płucach koni z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc. Podobne wnioski wysnuli u ludzi z rozpozną COPD Millman i wsp. [2] oraz Sadowska i wsp. [2006].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Aliyali M., Poorhasan Amiri A., Sharifpoor A., Zalli F., 2010. Effects of N-acetylcysteine on asthma exacerbation, Iranian J., Allergy Asthma Immunol., 9 (2), 103–109.
- [2] Millman M., Millman F.M., Goldstein I.M., Mercandetti A.J., 1985. Use of acetylcysteine in bronchial asthma – another look, Ann Allergy, 54 (4), 112–119.
- [3] Mukherjee T.K., Mishra A.K., Mukhopadhyay S., Hoidal J.R., 2007. High concentration of antioxidants N-acetylcysteine and mitoquinone-Q induces intercellular adhesion molecule 1 and oxidative stress by increasing intracellular glutathione, J. Immunol., 1:178(3), 1835–1844.
- [4] Niedźwiedź A., Nicpoń J., Różycki P., 2006. Patogeneza, diagnostyka i leczenie nawracającej obturacji dróg oddechowych koni, Med. Wet., 62 (5), 512–516.



## ANALIZA SEKWENCJI NUKLEOTYDOWYCH FRAGMENTÓW GENÓW E5 I L1 BPV-1 WYIZOLOWANYCH Z SARKOIDÓW KONI W POLSCE

### NUCLEOTIDE SEQUENCE ANALYSIS OF THE E5 AND L1 GENE FRAGMENTS OF THE BPV-1 ISOLATED FROM EQUINE SARCOIDS IN POLAND

Anna Szčerba-Turek<sup>1</sup>, Jan Siemionek<sup>1</sup>, Agata Bancercz-Kisiel<sup>1</sup>, Andrzej Raś<sup>2</sup>, Wojciech Szweda<sup>1</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: a.szčerba@uwm.edu.pl; <sup>2</sup>Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn

Sarkoidy są najczęściej spotykanymi nowotworami skóry koni. Występują u 1–8% koniowatych, bez względu na wiek, płeć, rasę oraz są sporadycznie stwierdzane u małop. Miejscami predelekcyjnymi do występowania guzów sarkoidu są głowa, kończyny, podbrzusze i pachwiny. Sarkoidy charakteryzują się małą złośliwością, jednak ze względu na liczne uszkodzenia skóry utrudniają użytkowanie koni oraz powodują straty ekonomiczne. Czynnikiem etiologicznym sarkoidów jest bydłęcy wirus brodawczaka typu 1 – BPV-1, należący do rodziny *Papillomaviridae*.

**Cel badań:** Analiza filogenetyczna fragmentów genu wczesnego E5 i genu późnego L1 BPV-1 wyizolowanych z sarkoidów koni w Polsce.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 40 fragmentów tkanek, pobranych ze zmian skórnych pochodzących od 29 koni. Przeprowadzono diagnostykę kliniczną, histopatologiczną i molekularną. Obecność fragmentu genu wczesnego E5 BPV-1 stwierdzano metodą PCR opisaną przez Teifke i wsp. [3], zaś obecność fragmentu genu późnego L1 BPV-1 metodą DOP PCR (Degenerate Oligonucleotid Primer PCR) ze starterami Fap59/Fap64 opisaną przez Furslund i wsp. [1] i starterami MY09/MY11 opisaną przez Ting i Manos (4). Produkty po PCR poddano sekwencjonowaniu. Analizę filogenetyczną wykonano przy użyciu oprogramowania MEGA 4 [2].

**Wyniki i omówienie:** Badania histopatologiczne potwierdziły obecność sarkoidów w 27 zmianach, co stanowiło 67,5%. Sarkoid typu fibroblastycznego zdiagnozowano w 26 przypadkach i w 1 przypadku stwierdzono sarkoid typu brodawkowego. Badania molekularne genu wczesnego E5 BPV-1 wykazały jego obecność w 38 próbkach, genu późnego L1 (DOP-PCR startery Fap59/Fap64) w 21 próbkach i odpowiednio w 31 próbkach (DOP-PCR startery MY09/MY11). Analiza filogenetyczna fragmentu genu E5 BPV-1 pozwoliła na utworzenie grup filogenetycznych A i B oraz wyodrębnienie 4 izolatów nr 2, 10, 16 i 17. Izolat nr 16 został zakwalifikowany do BPV-2, co zostało potwierdzone w DOP PCR (startery Fap59/Fap64). Po analizie filogenetycznej fragmentu genu L1 uzyskanego ze starterami Fap również wyodrębniono grupy filogenetyczne, odpowiednio A1 i B1. Natomiast po analizie filogenetycznej fragmentu genu L1 uzyskanego ze starterami MY wyodrębniono grupy filogenetyczne A2, B2 i C. Wszystkie izolaty z grup A, A1 i A2 miały sekwencję nukleotydową identyczną z BPV-1 nr w Banku Genów X02346. Pozostałe grupy to nowe warianty sekwencji nukleotydowych wybranych fragmentów genów E5 bądź L1 BPV-1 zidentyfikowane w Polsce.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Furslund O., Antonsson A., Nordin P., Stenquist B., Hansson B.G., 1999. A broad range of human papillomavirus types detected with general PCR method suitable for analysis of cutaneous tumors and normal skin. *J. Gen. Virol.*, 80, 2437–2443.
- [2] Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S., 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.*, 24, 1596–1599.
- [3] Teifke J.P., Hardt M., Weiss E., 1994. Detection of bovine papillomavirus DNA in formalin-fixed and paraffin-embedded equine sarcoids by polymerase chain reaction and non-radioactive in situ hybridization. *Eur. J. Vet. Pathol.*, 1, 5–10.
- [4] Ting Y., Manos M., 1990. Detecting and typing of genital human papillomaviruses, [in:] Innis M.A., Gel-fand D.H., Sninsky J.J., White T.J. (Eds.). *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, New York, USA, 356–367.





## ANALIZA SEKWENCJI NUKLEOTYDOWYCH FRAGMENTU GENU L1 BPV-1 UZYSKANEGO W DOP-PCR ZE STARTERAMI FAP59/FAP64 Z SARKOIDÓW KONI W POLSCE

### NUCLEOTIDE SEQUENCE ANALYSIS OF THE L1 GENE FRAGMENT OF THE BPV-1 ACHEIVED IN DOP-PCR WITH FAP59/FAP64 PRIMERS FROM EQUINE SARCOIDS IN POLAND

Anna Szczerba-Turek<sup>1</sup>, Jan Siemionek<sup>1</sup>, Agata Bancerz-Kisiel<sup>1</sup>, Andrzej Raś<sup>2</sup>, Wojciech Szweda<sup>1</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: a.szczerba@uwm.edu.pl; <sup>2</sup>Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn

Sarkoidy są najczęściej spotykanymi nowotworami skóry koni. Głównym czynnikiem etiologicznym sarkoidów jest bydłęcy wirus brodawczaka typu 1 – BPV-1 należący do rodziny *Papillomaviridae*. BPV-1 z niewiadomych jeszcze przyczyn przełamał barierę gatunkową i wywołuje proces nowotworowy u niespecyficznego dla siebie gatunku – koni. Wyróżniamy 6 typów sarkoidów: fibroblastyczny, brodawkowy, guzowaty, ukryty, mieszany i złośliwy.

**Cel badań:** Analiza filogenetyczna fragmentu genu późnego L1 BPV-1 wyizolowanych z sarkoidów koni w Polsce.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 40 fragmentów tkanek, zdiagnozowanych klinicznie jako sarkoid, pobranych ze zmian skórnych pochodzących od 29 koni. Badania histopatologiczne wykonano w Katedrze Anatomii Patologicznej Zwierząt, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie. DNA izolowano przy użyciu komercyjnego zestawu do izolacji DNA „Genomic Mini” (A&A Biotechnology, Gdynia). Obecność fragmentu genu L1 BPV-1 stwierdzano metodą DOP PCR (Degenerate Oligonucleotid Primer PCR) ze starterami FAP9/Fap64 opisaną przez Furslunda i wsp. [2]. Oczyszczone produkty DOP-PCR poddano sekwencjonowaniu w Serwisie Sekwencjonowania i Syntezy DNA Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie. Wyniki uzyskano pocztą elektroniczną, a do analizy wyników sekwencjonowania wykorzystano oprogramowanie BLASTN wersja 2.2.18. [1] oraz przeszukano bazy sekwencji GenBank+EMBL+DDBJ+PDB. Do analizy sekwencji nukleotydowych wykorzystano BioEdit Sequence Alignment Editor. Analizę filogenetyczną wykonano przy użyciu oprogramowania MEGA 4 [3].

**Wyniki i omówienie:** Badania histopatologiczne potwierdziły obecność sarkoidów w 27 zmianach, co stanowiło 67,5%. Sarkoid typu fibroblastycznego zdiagnozowano w 26 przypadkach i w 1 przypadku stwierdzono sarkoid typu brodawkowego. Badania molekularne wykazały obecność ampikonów genu późnego L1 BPV-1 w 21 próbkach, co stanowiło 52,5%. W wyniku analizy filogenetycznej uzyskane ampikony podzielono na 2 grupy filogenetyczne i jeden izolat (nr 16). Grupa filogenetyczna A składała się z 6 izolatów, zaś grupa filogenetyczna B z 16 izolatów. Sekwencje nukleotydowe z grupy A były w 100 % identyczne z sekwencją nukleotydową BPV-1 nr w Banku Genów NCBI X02346. Sekwencje z grupy filogenetycznej B stanowią natomiast nowe warianty sekwencji nukleotydowych fragmentu genu L1 BPV-1 nieopublikowane dotychczas w NCBI. Sekwencja nukleotydowa izolatu nr 16, która wykazała 99,1% podobieństwo do BPV-2 nr w Banku Genów NCBI M20219, została wyizolowana z tzw. dzikiego mięsa.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J., Zhang Z., Miller W., Lipman D.J., 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucl. Acids Res.*, 25, 3389–3402.
- [2] Furslund O., Antonsson A., Nordin P., Stenquist B., Hansson B.G., 1999. A broad range of human papillomavirus types detected with general PCR method suitable for analysis of cutaneous tumors and normal skin. *J. Gen. Virol.*, 80, 2437–2443.





## SKUTECZNOŚĆ SALBUTAMOLU W TERAPII HIPOKSEMII ŚRÓDOPERACYJNEJ U KONI – BADANIA WSTĘPNE

### EFFECTIVENESS OF INHALED SALBUTAMOL IN TREATMENT OF INTRAOPERATIVE HYPOXEMIA IN HORSES – PRELIMINARY STUDY

Marta Szmigielska, Kornel Ratajczak, Radomir Henklewski, Anna Biazik

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: marta261@interia.pl

Pomimo ogromnego postępu w technice anestezji i monitorowaniu, jak i sposobach korekcji zaburzeń krążeniowo-oddechowych, postępowanie anestetyczne u tego gatunku jest nadal obarczone ogromnym ryzykiem, a śmiertelność sięga 1% operowanych koni, a nawet 2% w przypadku zabiegów „kolkowych”. Obok hipotensji drugim ważnym powikłaniem śródanestetycznym koni jest hipoksja. Badania wykazały, że główną jej przyczyną jest ciężka niedodma, pojawiająca się już w bardzo krótkim czasie po indukcji, najbardziej nasiloną w pozycji grzbietowej. Wprowadzenie sztucznej wentylacji (IPPV – intermittent positive pressure) rzadko skutkuje istotnym wzrostem PaO<sub>2</sub>. Poprawę utlenowania krwi częstokroć uzyskać można dopiero po zastosowaniu RM (recruitment maneuver) i PEEP (positive end expiratory pressure), metody te jednak w sposób wyraźny upośledzają krążenie, wymagają też zastosowania specjalistycznego sprzętu. Inną próbą rozwiązania problemu hipoksemii jest zastosowanie leków z grupy bronchodilatatorów.

**Cel badań:** Sprawdzenie, na ile zastosowanie preparatu z tej grupy leków (salbutamol – Ventolin aerosol®) zmienia parametry opisujące stopień utlenowania krwi tętniczej.

**Materiał i metody:** Badaniem objęte zostały konie różnej rasy, płci i wieku, poddawane zabiegom operacyjnym w znieczuleniu ogólnym w pozycji grzbietowej, leczone w Katedrze i Klinice Chirurgii UP we Wrocławiu. Do leczenia salbutamolem zakwalifikowano 13 zwierząt, u których podczas znieczulenia (pomimo wentylacji 100% tlenem) PaO<sub>2</sub> osiągało wartość niższą od 80 mmHg. Salbutamol podawano wziewnie, w dawce 2 µg/kg. Po upływie 15 min od podania wykonywano kontrolne badanie gazometryczne krwi tętniczej.

**Wyniki i omówienie:** Wstępne wyniki badań, skuteczności salbutamolu w terapii hipoksemii śródoperacyjnej przynoszą zachęcające rezultaty (tab. 1).

Podaż dotchawicza aerozolu (2 µg/kg) u 10 z 13 (77%) koni, u których PaO<sub>2</sub> spadło poniżej 80 mmHg, spowodowała istotny (>30%) wzrost ciśnienia parcjalnego tlenu, rozwiązując problem hipoksemii. U 8 (80%) z tych 10 wartość PaO<sub>2</sub> nie spadła już poniżej 80 mmHg do końca zabiegu (śr. czas trwania zabiegu = 165 min, śr. czas od podania salbutamolu do końca zabiegu = 108 min). Nie zaobserwowano również negatywnego wpływu leku na pozostałe, monitorowane parametry (HR, MAP, PaCO<sub>2</sub>, pH).

**Podsumowanie:** Użycie salbutamolu nie nastęrcza żadnych problemów aparaturowych, lek jest bardzo tani i łatwy do podania. Jeżeli dalsze badania potwierdzą efektywność takiej terapii – duże znaczenie praktyczne miałyby jej popularyzacja, mogąca prowadzić do znacznego obniżenia śmiertelności i powikłań, szczególnie w tak trudnej grupie pacjentów, jakimi są konie „kolkowe”.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Nyman G., Funkquist B., Kwart C. et al., 1990. Atelectasis causes gas exchange impairment in the anaesthetized horse. *Equine Veterinary Journal*, 22, 317–324.

## STĘŻENIE KORTYZOLU W PRZEBIEGU CIĄŻY KLACZY CORTISOL CONCENTRATION DURING MARES PREGNANCY

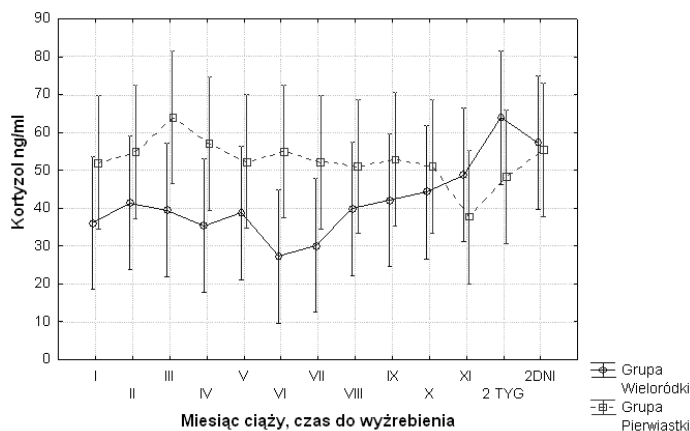
Świątek Anna, Okólski Adam

Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt,  
Katedra Rozrodu i Anatomii Zwierząt, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków  
e-mail: aswiatek@ar.krakow.pl

**Wstęp i cel pracy:** Adaptacja środowiskowa noworodków w pierwszych dniach po wyźrebieciu zależy od synchronizacji dojrzewania płodu i przygotowania klaczy do porodu. Żrebięta urodzone przedwcześnie mają wyższy wskaźnik śmiertelności w porównaniu z oseskami z innymi zaburzeniami okresu neonatalnego (np. posocznica, zespół niedotlenienia okołoporodowego). Niedojrzałość przedwcześnie urodzonych źrebiąt wynika z braku aktywacji płodowej osi przysadka – podwzgórze – nadnercza (HPA) i niskiego poziomu kortyzolu. U wielu gatunków zwierząt gospodarskich dojrzewanie płodu jest przyspieszane przez podawanie ciężarnej samicy kortyzolu lub deksametazonu. Dane literaturowe dotyczące stosowania tych terapii u koni oraz wpływu stężeń kortyzolu w osoczu krwi źrebnych klaczy na dojrzewanie płodów są sprzeczne [1, 2].

**Cel pracy:** Określenie stężenia kortyzolu w przebiegu ciąży u klaczy rasy Konik Polski oraz wykazanie różnic w stężeniach tego hormonu u pierwiastek i wieloródek.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiła krew 10 źrebnych klaczy rasy Konik Polski. Klacze były w wieku 4–19 lat, 5 klaczy było pierworódkami, 5 wieloródkami. Krew pobierana była co 30 dni począwszy od 4 tygodnia po zapłodnieniu oraz 2 tygodnie i 2 dni przed wyźrebieciem, każdorazowo między godziną 8 i 9 rano. Z pozyskanej krwi odwirowywano osocze i przechowywano w  $-20^{\circ}\text{C}$  do czasu wykonania analizy. Kortyzol oznaczano metodą radioimmunologiczną.



Wykres 1. Średnie stężenie kortyzolu (ng/ml) w przebiegu ciąży (pionowe słupki oznaczają przedział ufności)

**Wyniki i wnioski:** Średni poziom kortyzolu w przebiegu doświadczenia wyniósł 46,81 ng/ml dla wieloródek 41,93 ng/ml, pierwiastek 51,94 ng/ml. Jednoczynnikowa analiza wariancji wykazała wysoce istotne statystycznie różnice w poziomie kortyzolu między wieloródkami i pierwiastkami ( $p=0,002$ ). Najwyższy poziom 104,96 ng/ml odnotowano w 3. miesiącu ciąży u klaczy która należała do grupy pierwiastek, najniższe 9,471 ng/ml w 6. miesiącu u wieloródki. Jednoczynnikowa analiza wariancji nie wykazała statystycznych różnic w poziomie kortyzolu w kolejnych miesiącach ciąży.

Wyniki badań sugerują, że ciąża powoduje większy stres u pierwiastek niż wieloródek. Bez względu na zaawansowanie ciąży stężenie kortyzolu pozostaje na wyrównanym poziomie.

### Piśmiennictwo :

- [1] Nagela C., Erberb R., Bergmaier C., Wulfa M., Aurich J., Möstld E., Aurichb C., 2012. Cortisol and progesterone release, heart rate and heart rate variability in the pregnant and postpartum mare, fetus and newborn foal. *Theriogenology* (w druku).
- [2] Ousey J.C., Kolling M., Kindahl H., Allen W.R., 2011. Maternal dexamethasone treatment in late gestation induces precocious fetal maturation and delivery in healthy Thoroughbred mares. *Equine vet. J.*, 43 (4) 424–429.



## DWA PRZYPADKI ZŁAMAŃ KOŚCI U KONI LECZONE ZA POMOCĄ STABILIZATORA ZEWNĘTRZNEGO

### USAGE OF AN EXTERNAL SKELETAL STABILIZER IN THE TREATMENT OF FRACTURES IN TWO HORSES

Bernard Turek, Andrzej Bereznowski, Zdzisław Kłos

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, e-mail: turekbernard@go2.pl

**Wstęp:** Leczenie złamań kości długich u koni stanowi duży problem. Większość z nich leczona jest za pomocą płytek stalowych przykręcanych do kości. Z tym sposobem leczenia wiąże się jednak wiele problemów, dlatego poszukuje się rozwiązań alternatywnych. Użycie w takich przypadkach stabilizatorów zewnętrznych może być dobrym rozwiązaniem. Doniesienie przedstawia wyleczenie dwóch koni ze złamaniem trzonu kości żuchwy i ze złamaniem kości piszczelowej z użyciem stabilizatora zewnętrznego.

**Opis przypadków:** Przypadek 1 – koń, klacz w wieku lat 8 o masie ciała 550 kg i użytkowaniu skokowym ze złamaniem lewego trzonu żuchwy. Do złamania doszło podczas upadku po skoku przez przeszkodę. Przypadek 2–4-miesięczne źrebię rasy arabskiej ze złamaniem wieloodłamowym trzonu kości piszczelowej lewej w 1/3 bliższej. W pierwszym przypadku stabilizator został usunięty w miesiąc po operacji, w drugim – trzy miesiące po operacji. W obu sytuacjach uzyskano wyleczenie. Koń skokowy wrócił do pierwotnego użytkowania w trzy miesiące po złamaniu, źrebię w 8 miesięcy po złamaniu dołączyło do grupy rówieśników.

**Wyniki i omówienie:** W pierwszym przypadku złamanie dotyczyło trzonu żuchwy po stronie lewej. Pierwszy ząb trzonowy został wyłamany i odchylony od linii pozostałych zębów w stronę boczną o około 1,5 cm. W trakcie operacji zębodół został oczyszczony, a ząb ustawiono w linii pozostałych zębów. Stabilizacji złamania dokonano za pomocą stabilizatora zewnętrznego połączonego z czterema śrubami dokorowymi o średnicy 4,5 mm umieszczonymi w żuchwie. Jedna śruba blisko linii złamania musiała zostać usunięta w dwa tygodnie po operacji z powodu infekcji. W drugim przypadku dokonano stabilizacji odłamów za pomocą trzech śrub dokorowych o średnicy 4,5 mm. Następnie w każdym z odłamów umieszczono po dwa grotowkręty samogwintujące typu Apex o średnicy 5,5 mm połączonych z elementami stabilizatora. Z powodu zakażenia wokół grotowkręta 1 w odłamie bliższym konieczne było usunięcie go w dwa tygodnie po operacji. Pomimo problemów na które napotkano w obu złamaniach związanych z zakażeniem i koniecznością przedwczesnego usunięcia niektórych grotowkrętów, oba przypadki zakończyły się sukcesem. Na tej podstawie możemy stwierdzić, że stabilizator zewnętrzny może być stosowany z powodzeniem w leczeniu niektórych złamań kości u koni.

#### Piśmiennictwo:

- [1] De Godoy R.F., Filgueiras R.R., Gontijo Li' L.A., Ximenes Fa' Bio H.B., De Gouvea L.V, Pereira C.S., Almeida R.M., Leite C.R., Neto A.R., Borges J.R., 2009. Treatment of a Periarticular Tibial Fracture in a Foal with a Hybrid External Fixator. *Veterinary Surgery* 38, 650–653.
- [2] Aithal H.P., Kinjavdekar P., Amarpal, Pawde A.M., Singh G.R., Setia H.Ch., 2010. Management of tibial fractures using a circular external fixator in two calves. *Veterinary Surgery*, 39, 621–626.
- [3] Haralampus R.M.A., Warren C., Brehm W., Tessier C., 2010. Use of a pinless external fixator for unilateral mandibular fracture repair in nine equids. *Veterinary Surgery*, 39, 761–764.



## LEKOWRAŻLIWOŚĆ BAKTERII NAJ CZĘŚCIEJ IZOLOWANYCH Z UKŁADU ROZRODCZEGO KLACZY

### DRUG SENSITIVITY OF THE BACTERIA MOST FREQUENTLY ISOLATED FROM MARE'S REPRODUCTIVE TRACT

Janusz Zbylut, Wiesław Krumrych, Edward Malinowski

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Al. Powst. Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, e-mail: vetri@logonet.com.pl

Infekcje dróg rodnych stanowią w rozrodzie koni istotny problem, o czym świadczy wzrost drobnoustrojów stwierdzony w ponad 60% wymazów pobranych z macicy klaczy, u których w trakcie sezonu rozrodczego stwierdzono trudności w zażrebienu.

**Cel pracy:** Ocena wrażliwości na wybrane antybiotyki bakterii najczęściej izolowanych z dróg rodnych klaczy.

**Materiał i metody:** Wrażliwość bakterii na antybiotyki oceniono metodą dyfuzyjno-krążkową w odniesieniu do: ampicyliny (AMP), amoksycyliny (AML), amoksycyliny z kwasem klawulanowym (AMC), cefopezozonu (CFP), enrofloksacyny (ENR), gentamycyny (CN), kanamycyny (K), linkomycyny (MY), neomycyny (N), novobiocyny (NV), oleandomycyny (OL), oksytetracykliny (OT), penicyliny (P) i streptomycyny (S).

**Wyniki i omówienie:** Wśród bakterii Gram-dodatnich izolowano głównie *S. zooepidemicus* (94), rzadziej *S. equisimilis*. Wśród bakterii Gram-ujemnych przeważała *E. coli* (123 izolaty). Szczepy z rodzaju *Kluyvera* stwierdzono w 15 przypadkach, natomiast w 17 hemolityczne Gram-ujemnych pałeczki, których przynależności gatunkowej nie udało się zidentyfikować. *S. zooepidemicus* cechowały się największą wrażliwością na AML (86%) i AMC (87%). Umiarkowanie reagowały na CFP oraz AMP (65 oraz 57% wrażliwych szczepów). Podobną wrażliwością na antybiotyki cechował się *S. equisimilis*: na działanie AML i AMC podatnych było 90%, na CFP 80% i na AMP 70% szczepów. Pozostałe antybiotyki były mniej skuteczne w odniesieniu do obu tych drobnoustrojów, a wrażliwość na nie – nie przekraczała 35%. W grupie gronkowców najczęściej stwierdzany *St. capitis* (13 szczepów) charakteryzował się wrażliwością na szereg antybiotyków. Najwyższą – 92% na AMC, następnie – 85% na AML, CFP i OT, 77% na K, nieco niższą – 69% na AMP, ENR i N, 61% na OL i S, 54% na CN, MY oraz P i 38% na NV. W przypadku *St. xylosum* skuteczność działania zastosowanych antybiotyków była gorsza. Najwyższą wrażliwość (83%) zarejestrowano na AMC, 67% szczepów reagowało na AML, CFP i CN oraz niewiele ponad połowa na AMP, ENR i OT. Wrażliwość szczepów na pozostałe antybiotyki wynosiła od 8 do 42%. Szczepy *E. coli* w najwyższym odsetku okazały się podatne na ENR (87%). W miarę skuteczne były też CFP (79%), AML (76%) i AMC (76%) oraz OT (62%). Pozostałe antybiotyki cechowały się dużo gorszą efektywnością. Umiarkowanie wrażliwe na antybiotyki były Gram-ujemne hemolityczne pałeczki, bez przynależności gatunkowej. Najskuteczniejsze w hamowaniu ich wzrostu były: OT (65%), ENR, CN i K (po 59%) oraz AMC (53%). Na działanie pozostałych antybiotyków pałeczki te były słabo wrażliwe (0–47% podatnych szczepów). Bakterie z rodzaju *Kluyvera* sp. w miarę wysoką wrażliwość wykazywały w odniesieniu do ENR i CFP, odpowiednio 87 i 80%. Słabiej (60 i 67% wr. szczepów) działały AML i AMC oraz OT i AMP (53 i 47% wr. szczepów), a także K i CN (33 i 27% wr. szczepów). Nieskuteczne okazały się pozostałe antybiotyki.

W naszych badaniach najbardziej uniwersalne w przypadku hamowania wzrostu izolowanych bakterii były połączenie AMC oraz CFP i ENR. Wyniki te pokrywają się z badaniami innych autorów, którzy również wskazywali na wysoką skuteczność AMC – w stosunku do bakterii Gram-dodatnie (ponad 80%) oraz Gram-ujemne (ok. 70%), a także ENR w hamowaniu wzrostu *E. coli* i antybiotyków beta-laktamowe, P i AMP w odniesieniu do paciorkowców [1, 2]. W naszych badaniach P okazała się mało skuteczna.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Albihn A., Baverund V., Magnusson U., 2003. Uterine Microbiology and Antimicrobial Susceptibility in Isolated Bacteria from Mares with Fertility Problems. *Acta Vet. Scan.*, 44, 121–129.
- [2] Frontoso R., De Carlo E., Pasolini M.P., van der Meulen K., Pagnini U., Iovane G., De Martino L., 2008. Retrospective study of bacterial isolates and their antimicrobial susceptibilities in equine uteri during fertility problems. *Res. Vet. Sci.*, 84, 1–8.



## KAMIEŃ W PĘCHERZU MOCZOWYM U 8-LETNIEGO KUCA – PRZYPADEK KLINICZNY

### BLADDER URINARY STONE IN 8 YEARS OLD PONY – CLINICAL CASE

Agnieszka Banach<sup>1</sup>, Roland Kusy<sup>2</sup> i Krzysztof Lutnicki<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Zakład Chorób Wewnętrznych Zwierząt Gospodarskich i Koni; <sup>2</sup>Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, ul. Głęboka 30, Lublin, e-mail: agnieszka.banach@up.lublin.pl

**Wstęp:** Kamica pęcherza moczowego jest dość rzadkim schorzeniem, stwierdzanym najczęściej u wałachów. Większość przypadków kamicy u koni nie jest rozpoznawanych, ponieważ nie występują typowe objawy kliniczne tak charakterystyczne u innych gatunków zwierząt. Zazwyczaj wystarczające jest podjęcie leczenia zachowawczego (piasek, kamienie o małej średnicy), a jedynie nieznaczny procent kamicy o dużej średnicy kamieni wymaga operacji.

**Materiały i metody:** 8-letni wałach, kuc Feliński został przyjęty do kliniki z historią kilkumiesięcznego nietrzymania moczu. Koń przez ostatnie trzy miesiące był leczony farmakologicznie z zastosowaniem antybiotyków, bez znaczącej poprawy stanu zdrowia. Podjęto czynności, których celem było rozpoznanie przyczyn przewlekłego nietrzymania moczu u konia. W badaniu klinicznym stwierdzono obecność twardej owalnej struktury, silnie związanej ze ścianą pęcherza moczowego. Badanie USG potwierdziło obecność kamienia wypełniającego ponad połowę objętości pęcherza. W badaniu biochemicznym krwi stwierdzono niski poziom kreatyniny – 1,02 mg/dl i aminotransferazy asparaginianowej (AST) – 239 u/l. Morfologia krwi oraz poziomy mocznika, bilirubiny całkowitej, cholesterolu i białka całkowitego były w normie. W badaniu moczu stwierdzono obecność krwi (na +++), białka (na +++++ – w trakcie testu doszło do natychmiastowej reakcji powierzchniowej i wytworzenia piany). W badaniu mikroskopowym osadu moczu pole widzenia usiane było bardzo licznymi bakteriami, nie stwierdzono jednak wałeczków ani kryształów. Z posiewu moczu otrzymano czyste kultury *Escherichia coli*.

Wyniki badań i analiz jednoznacznie wskazywały na konieczność wykonania zabiegu operacyjnego. Zabieg cystectomii przeprowadzono metodą opisaną przez Auer i Stick, z dojścia przez kanał pachwinowy, w modyfikacji własnej. Kamień wielkości piłki tenisowej był silnie zrośnięty ze ścianą pęcherza moczowego po usunięciu ważył 274,8 grama, a jego powierzchnia była porowata. Po okresie 2-tygodniowej obserwacji i rekonwalescencji koń został wypisany do domu w stanie ogólnym dobrym.

Obserwacje własne jak również dane z piśmiennictwa dowodzą, że w wielu przypadkach nietrzymania moczu u koni, a szczególnie o charakterze przewlekłym oraz w przypadkach bólów kolkowych niewiadomego pochodzenia, przydatne w rozpoznaniu jest przeprowadzenie badania w kierunku kamicy dróg moczowych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Duesterdieck-Zellmer K.F., 2007. Equine urolithiasis, Veterinary Clinic of North America: Equine Practice.
- [2] Abuja G.A., Garcia-Lopez J.M., 2010. Pararectal cystostomy for urolith removal in nine horses, Veterinary Surgery.





## RONIENIA KLACZY NA TLE WIRUSA ZAPALENIA TĘTNIC KONI (EQUINE ARTERITIS VIRUS – EAV) W POLSCE W LATACH 1977–2010

### ABORTIONS IN MARES CAUSES BY EQUINE ARTERITIS VIRUS (EAV) IN POLAND BETWEEN 1977–2010

Barbara Bażanów, Natalia Jackulak, Zdzisław Staroniewicz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii, Zakład Mikrobiologii, ul. Norwida 31, 53-230 Wrocław, e-mail: barbara.bazanow@up.wroc.pl

**Wstęp:** Wirusowe zapalenie tętnic koni (Equine Viral Arteritis – EVA) jest jedną z najgroźniejszych chorób zakaźnych koni, w przebiegu której stwierdza się masowe ronienia i resorpcje płodów przez ciężarne klacze oraz zachorowania i przypadki śmiertelne u źrebiąt. Choroba ta występuje na całym świecie, powodując duże straty w hodowli i obrocie końmi rasowymi. Do zakażenia dochodzi najczęściej drogą kropelkową oraz w trakcie krycia, w czasie którego może zostać zainfekowanych 85–100% pełnowrażliwych klaczy. Niekiedy źrebięta rodzą się żywe, jednakże często są słabe i nie wykazują odruchu ssania, umierają po kilku – kilkunastu dniach. W poronionych płodach nie obserwuje się zazwyczaj żadnych zmian makroskopowych, wyjątkowo ronione płody są zmacerowane. Rozpoznanie wirusowego zapalenia tętnic na podstawie objawów klinicznych jest bardzo trudne, a czasem niemożliwe, w związku z tym konieczne jest potwierdzenie rozpoznania wstępnego za pomocą badań laboratoryjnych.

**Cel poznawczy:** Określenie sytuacji epidemiologicznej ronień klaczy na tle EAV w Polsce w latach 1977–2010.

**Materiał i metody:** Materiał stanowiły 452 poronione płody i padłe źrebięta. Do badania pobierano wycinki płuc, wątroby i śledziona, z których przygotowywano homogenaty. Supernatantem w ilości 0,2 ml zakażano hodowle komórek RK-13 (komórki nerki królika) i Vero (komórki nerki małpy zielonej). Za wynik dodatni przyjmowano zmiany cytopatyczne polegające na zaokrągleniu się komórek i zbijaniu się ich w różnej wielkości gronka. Końcowym efektem była liza hodowli. W przypadku braku CPE materiał pasażowano co 4 dni, wykonując do pięciu pasażów każdej z badanych próbek. Zmiany cytopatyczne obserwowano zarówno w hodowlach RK-13, jak i Vero. Czynniki cytopatogenne zidentyfikowano następnie w odczynach immunofluorescencji pośredniej EAV. Analizę statystyczną danych przeprowadzono Z-testem.

#### Wyniki i omówienie:

	1977–1980	1981–1985	1986–1990	1991–1995	1996–2000	2001–2005	2006–2010
Liczba przebadanych prób	25	52	136	70	65	60	44
Liczba izolacji EAV z płodów	8	11	15	7	15	4	0
Liczba izolacji EAV u źrebiąt	3	16	16	1	1	1	0
Liczba izolacji EAV ogółem	11 (44%)	27 (52%)	31 (23%)	8 (11,5%)	16 (24,5%)	5 (8,5%)	0 (0%)

Wirusa zapalenia tętnic koni (EAV) wyizolowano w 98 przypadkach. Zaobserwowano tendencję wzrostową od początku okresu prowadzenia badań do połowy lat osiemdziesiątych, po czym od 1986 r. zaznacza się spadek izolacji aż do poziomu zerowego od roku 2003. Wyjątek stanowi okres 1996–2000, kiedy to zanotowano niewielki wzrost liczby izolacji EAV.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Holyoak G.R., Balasuriya U.B.R. i wsp., 2008. Equine viral arteritis: Current status and prevention. *Theoretical Veterinary Medicine and Biotechnology*, 70(3), 403–414.
- [2] Sellon D.C., Long M.T., 2007. Equine infectious diseases.



## MOŻLIWOŚCI LECZENIA PRZEMIESZCZENIA OKRĘŻNICY WSTĘPUJĄCEJ NA LEWĄ STRONĘ (DISLOCATIO COLI ASCENDENTIS AD SINISTRAM)

### TREATMENT OF THE LEFT DORSAL DISPLACEMENT OF THE LARGE COLON (DISLOCATIO COLI ASCENDENTIS AD SINISTRAM)

Anna Biazik, Radomir Henklewski, Marta Szmigielska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: anna.biazik@gmail.com

Budowa okrężnicy dużej koni predysponuje do przemieszczeń, do których zaliczamy: zagięcie zgięcia miednicznego (*retroflexio coli asc.*), przemieszczenie okrężnicy na prawą stronę (*dislocatio coli asc. ad dextram*) oraz przemieszczenie okrężnicy na lewo (*dislocatio coli asc. ad sinistram*). W tym ostatnim przypadku dochodzi do przesnurowania lewych pokładów okrężnicy wstępującej przez więzadło śledzionowo-nerkowe i ich uwięźnięcia.

**Cel pracy:** Przedstawienie dostępnych w Polsce możliwości leczenia przemieszczenia okrężnicy wstępującej na lewą stronę.

**Materiały i metody:** Materiał dotyczył 12 koni przyjętych do kliniki z objawami morzyskowymi. U wszystkich zdiagnozowano przemieszczenie okrężnicy wstępującej na lewą stronę. Kwalifikację koni do określonego sposobu leczenia prowadzono na podstawie stopnia nasilenia objawów bólowych i odpowiedzi na leczenie farmakologiczne. Terapię zachowawczą wdrożono u 7 pacjentów, z niewielkimi objawami bólowymi, ustępującymi po podaniu metamizolu i butylobromku skopolaminy przynajmniej na 2–3 godziny. Terapia obejmowała wlewy dożołądkowe wody w ilości 8 l co 3–4 godz. oraz podawanie ksylazyny w dawce 0,3 mg/kg co 4–6 godz. Po ustąpieniu objawów sedacji konie wychodziły na spacer (2 konie) lub były lonżowane stępem i kłusem (4 konie), jeden pacjent ze względu na złamanie kości pęcinowej kończyny lewej piersiowej nie wychodził z boksu.

Kolejnych pięć koni ze względu na bardzo silne objawy bólowe, nieustępujące po podaniu niesterydowych leków przeciwzapalnych (megluminian fluniksyny), zakwalifikowano do zabiegu operacyjnego zaraz po przyjęciu do kliniki.

**Wyniki i omówienie:** U pięciu z siedmiu koni poddanych leczeniu zachowawczemu stwierdzono powrót okrężnicy wstępującej do fizjologicznego położenia. Zatem skuteczność podjętej terapii zachowawczej wynosi ok. 71%. Jeden pacjent, ze względu na brak poprawy, został zakwalifikowany do przetaczania, które zakończyło się powodzeniem. Jeden pacjent poddany został laparotomii w związku z gwałtownym nasileniem się objawów bólowych. Zabieg operacyjny tego pacjenta, jak i pozostałych pięciu, zakwalifikowanych od razu do leczenia chirurgicznego, zakończył się powodzeniem. W grupie operowanych koni u 2 pacjentów (33%) wystąpiły jednak komplikacje pooperacyjne (u jednego pacjenta niedrożność porażenna jelit cienkich, u drugiego zrosty). Opisane powyżej postępowanie jest jedynym, dostępnym w Polsce działaniem lekarskim. Nie uwzględnia ono zastosowania fenylefryny, która jest lekiem z wyboru w terapii tego typu przemieszczenia, ze względu na brak jej rejestracji w kraju.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Lindegaard C., Ekstrom C.T., Wulf S.B., Vendelbo J.M.B., Andersen P.H., 2011. Nephrosplenic entrapment of the large colon in 142 horses (2000–2009): Analysis of factors associated with decision of treatment and short-term survival. *Equine Veterinary Journal*, 43 (suppl. 39), 63–68.



## ANALIZA UDZIAŁU KRĄŻĄCYCH KOMPLEKSÓW IMMUNOLOGICZNYCH W SUROWICACH KLINICZNIE ZDROWYCH KONI

### ANALYSIS OF PARTICIPATION CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN SERA OF CLINICALLY HEALTHY HORSES

Ryszard Gołda<sup>1</sup>, Wiesław Krumrych<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Biochemii i Biologii Komórki, ul. Chodkiewicza 30, 85-064 Bydgoszcz, e-mail: goldar@ukw.edu.pl

<sup>2</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Fizjologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Pojęciem krążące kompleksy immunologiczne (KKI) określa się struktury powstające w wielu reakcjach immunologicznych. Są to wielkocząsteczkowe agregaty białkowe krążące we krwi, zawierające głównie antygeny zewnątrz- lub wewnątrzpochodne i skierowane przeciw nim przeciwciała. Wzrost stężenia krążących kompleksów immunologicznych obserwowany jest w wielu chorobach ludzi i zwierząt [1].

**Cel pracy:** Analiza poziomów krążących kompleksów immunologicznych w surowicach klinicznie zdrowych koni oraz charakterystyka frakcji białkowych wchodzących w skład badanych kompleksów.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiła krew żylna 42 klinicznie zdrowych koni w wieku od 2 do 16 lat. Próbkę surowicy przechowywano do czasu wykonania analiz w temperaturze -20°C. Poziomy krążących kompleksów immunologicznych określono metodą Haskowej [3]. Następnie izolowano z surowic frakcje białkowe KKI, po czym prowadzono ich dysocjację w celu wyodrębnienia części antygenowej. Dalsza analiza jakościowa prowadzona była przy zastosowaniu elektroforezy SDS-PAGE. Wchodzące w skład KKI białka wizualizowano Coomassie Brilliant Blue w połączeniu z czułą metodą srebrną [2].

**Wyniki i omówienie:** Średnia wartość ekstynkcji w surowicach końskich przy  $E_{450}$  wynosiła  $x_{sr} = 0,278 \pm 0,096$ . Rezultat ten wskazuje na nieco wyższe wartości poziomów w porównaniu z wartościami uzyskanymi przez innych autorów [3]. Różnica ta może wynikać z dwukrotnie większej liczby przebadanych przez nas przypadków, jak również zróżnicowania wiekowego badanych zwierząt. Analiza elektroforetyczna pozwoliła wykryć frakcje białek krążących kompleksów immunologicznych o różnych masach cząsteczkowych. Określono ogółem 23 frakcje białkowe w przedziale mas cząsteczkowych od 25 do 294 kDa. Badanie elektroforetyczne wykazało bardzo niewielkie zróżnicowanie w występowaniu poszczególnych frakcji białkowych KKI u klinicznie zdrowych koni. Wydaje się, że analiza KKI w surowicach zwierząt, ich dysocjacja i identyfikacja części antygenowej pod względem swoistości mogą ułatwić różnicowanie populacji osobników zdrowych od chorych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Phillips T.M., 1980. Immune Complex Assays: Diagnostic and Clinical Applications, Critical Reviews in Clinical Laboratory Science: Volume 27, 237–264.
- [2] Wiederkehr F., Büeler M. R., Vonderschmitt D.J., 1991. Chromatographic and Electrophoretic Studies of Circulating Immune Complexes in plasma: Journal of Chromatography, 556, 77–87.
- [3] Von Stanek Ch., Mayr B., Graninger W., Hofmann R., 1984. Immunkomplexe im peripheren Blut bei gesunden und an Hufrehe erkrankten Pferden, Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., 97, 25–28.



## OCENA PRZYDATNOŚCI WYCINKÓW *ENDOMETRIUM* ORAZ SZCZOTECZEK W MIKROBIOLOGICZNEJ DIAGNOSTYCE ŚRODOWISKA MACICY NIEPŁODNYCH KLACZY

### EVALUATION OF ENDOMETRIAL BIOPSY AND CYTOBRUSHES IN MICROBIOLOGICAL DIAGNOSTICS OF UTERINE ENVIRONMENT IN BARREN MARES

Justyna Gumienna<sup>1</sup>, Zdzisław Staroniewicz<sup>2</sup>, Roland Kozdrowski<sup>1</sup>, Andrzej Raś<sup>3</sup>, Anna Pinkowska<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław, e-mail: justyna.gumienna@gmail.com;

<sup>2</sup>Katedra Patologii, Zakład Mikrobiologii, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław

<sup>3</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, ul. M. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn

Infekcje bakteryjne w macicy są uznawane za główny powód niepłodności klaczy. Badanie mikrobiologiczne materiału pobranego z macicy jest najczęstszą metodą wykorzystywaną w diagnostyce *endometritis* i pozwala na zastosowanie skutecznego leczenia.

**Cel badań:** Porównanie badania biopsyjnego – jako „najlepszego standardu” oraz wyników uzyskanych po pobraniu materiału za pomocą szczoteczek macicznych w aspekcie ich przydatności w wykrywaniu drobnoustrojów bytujących w macicy niepłodnych klaczy.

**Materiał i metody:** Materiał do badań mikrobiologicznych stanowiły wycinki błony śluzowej macicy oraz materiał pobrany za pomocą szczoteczki z *endometrium* 37 klaczy. Wskazaniem do badania było niezajście w ciążę po minimum trzech kryciach/inseminacjach (klacze podejrzane o *endometritis subclinica*). Badanie zostało przeprowadzone u klaczy będących w rui lub w okresie poza rują, po wcześniejszym przeprowadzeniu wywiadu i badania ginekologicznego. Za pozytywny wynik obecności danego drobnoustroju uznawano, gdy ponad 90% obecnych kolonii stanowiło ów mikroorganizm. Każdy inny wzrost uznawano za kontaminację i określano jako wynik negatywny [1].

**Wyniki i omówienie:** Pozytywny wzrost specyficznych bakterii ze szczoteczki, biopsji lub obu otrzymano w 68% przypadków, u 50% klaczy w rui i u 78% klaczy poza rują. Najczęściej izolowanymi bakteriami, biorąc pod uwagę wszystkie klacze, były beta hemolityczne streptokoki (32%), u klaczy poza rują stanowiły 39% wykrywanych drobnoustrojów, natomiast u klaczy w rui 14%, a gatunki niepatogenne: *Micrococcus* i *Streptococcus equinus* stwierdzono w 28% przypadków. W 44% pozytywnych wyników z biopsji nie uzyskano wzrostu ze szczoteczek, u klaczy w rui wyniosły one 57%, a poza rują 39%. W 24% prób pozytywnych uzyskano wzrost ze szczoteczek przy negatywnym wzroście z biopsji, u klaczy w rui stanowiły one 14%, a poza rują 28%. Natomiast wzrost pozytywny zarówno w materiale pobranym za pomocą szczoteczek, jak i biopsji uzyskano w 32% wszystkich wyników pozytywnych, w rui 28%, poza rują 33%. Jeśli wynik wzrostu drobnoustrojów ze szczoteczki jest porównywany do wzrostu z biopsji jako „najlepszego standardu”, to czułość szczoteczek wynosi 0,42. Swoistość, dodatnia wartość predykcyjna oraz ujemna wartość predykcyjna wynoszą odpowiednio: 0,67; 0,57; 0,52. Czułość, swoistość, dodatnia wartość predykcyjna, ujemna wartość predykcyjna szczoteczek u klaczy w rui przedstawiają się następująco: 0,33; 0,88; 0,67; 0,64. Natomiast u klaczy poza rują wartości te kształtują się odpowiednio: 0,46; 0,50; 0,55; 0,42. Podsumowując, badanie mikrobiologiczne dostarcza cennych informacji o środowisku macicy niepłodnych klaczy, a na podstawie uzyskanych wyników należy stwierdzić, że z posiewów z biopsji częściej izolowano patogenne bakterie niż z materiału pobranego szczoteczkami.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Nielsen J.M., 2005. Endometritis in the Mare: A diagnostics study comparing cultures from swab and biopsy, *Theriogenology*, 64, 510–518.



## IDIOPATYCZNE EOZYNOFILOWE ZAPALENIE JELIT CIENKICH

## IDIOPATIC EOSINOPHILIC ENTERITIS

Radomir Henklewski<sup>1</sup>, Anna Biazik<sup>1</sup>, Marta Szmigielska<sup>1</sup>, Marcin Nowak<sup>2</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: radomir.h@gmail.com; <sup>2</sup>Katedra Patologii, Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Chroniczne zapalenia jelit (chronic inflammatory bowel disease CIBD) związane są z dysfunkcją przewodu pokarmowego na tle infiltracji błony śluzowej i podśluzowej przez eozynofile, komórki plazmatyczne, makrofagi, granulocyty lub bazofile. U koni występują w czterech postaciach: granulocytarne zapalenie jelit (granulomatous enteritis GE) często porównywane z chorobą Crohna u ludzi, limfocytarno-plazmatyczne zapalenie jelit (lymphocytic-plasmacytic enterocolitis LPE) uważane za początkowe stadium chłoniaka, wielonarządowe eozynofilne (multisystemic eosinophilic epitheliotropic disease MEED) oraz idiopatyczne eozynofilne zapalenie jelit (eosinophilic enterocolitis EC). W przypadku EC zmiany występujące w jelitach mogą być rozsiane lub występować w postaci ogniskowych zlokalizowanych „taśm” albo „płytek”.

**Materiał i metody:** Materiał stanowi 186 koni operowanych pomiędzy 2008, a 2011 r. z powodu ostrych objawów kolkowych. W pracy omówione zostaną szczegółowo dwa ciekawe przypadki, gdzie rozpoznano idiopatyczne eozynofilne zapalenie jelit cienkich (IEZJC). Diagnozę postawiono na podstawie badania śródoperacyjnego i histopatologicznego usuniętego chorobowo zmienionego fragmentu jelit. Pobrane wycinki tkankowe utrwalano przez 24 godziny w 7% buforowanej formalinie, a następnie przeprowadzono rutynowo do bloczków parafinowych i krojono na skrawki grubości 4 µm. Do oceny histopatologicznej preparatów mikroskopowych zastosowano barwienie metodą hematoksylina – eozyna (HE). Z otrzymanych preparatów wykonano zdjęcia mikroskopowe, które poddano komputerowej analizie na stanowisku złożonym z komputera sprzężonego z mikroskopem firmy Carl Zeiss model Axiophot. Cały zestaw miał możliwość zapisu obrazu i jego cyfrowej analizy. Do pomiarów wykorzystano program MultiScanBase. Badaniem histopatologicznym pobranego materiału stwierdzono masywne nacieki zapalne złożone głównie z granulocytów kwasochłonnych w obrębie błony śluzowej, błony podśluzowej, błony mięśniowej zarówno w warstwie okrężnej, jak i podłużnej oraz pod błoną surowiczą. Ponadto obserwowano nieznaczne wylewy krwi, a także obrzęki w błonie podśluzowej.

**Wyniki i omówienie:** Spośród 186 przypadków 27 stanowiły konie, u których przyczyna operacyjnego leczenia zlokalizowana była w jelitach cienkich. U dwóch spośród nich 6- i 21-letniego konia stwierdzono charakterystyczne zmiany powodujące zwężenie światła jelita. U nich właśnie potwierdzono IEZJC.

Są to pierwsze przypadki opisane w Polsce.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Barton M.H., 2005. Diagnosis and Treatment of Enteritis and Inflammatory Bowel Disease. AAEP, Quebec.





## RZADKI PRZYPADEK ZWICHNIĘCIA RZEPKI U ŻREBAKA. TECHNIKA LECZENIA OPERACYJNEGO

### DISLOCATIO OF THE PATELLA IN A FOAL. TECHNIC OF A SURGICAL MANAGEMENT

Radomir Henklewski, Anna Biazik, Marta Szmigielska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: radomir.h@gmail.com

Choroba ta głównie dotyczy kuców i występuje na obu kończynach. Jest rozpoznawana najczęściej od razu po narodzinach źrebaka. Jednakże czasami w przypadku nadwichnięcia stan ten może być rozpoznany po jakimś czasie, gdy wystąpią już zmiany degeneracyjne w stawach. Według Engelberta można wyróżnić 4 stopnie przemieszczenia rzepki od stanu, w którym samodzielnie ulega ustawieniu w miejscu fizjologicznym do stanu, gdzie nawet manualnie nie można jej odprowadzić we właściwą dla niej pozycję. Od 2008 r. w Klinice Chirurgii odnotowano jeden przypadek przemieszczenia rzepki u źrebaka na zewnątrz, który był leczony operacyjnie.

**Materiał i metody:** Do Kliniki Chirurgii trafił źrebak rasy tinker w wieku 5 miesięcy. Z wywiadu ustalono, że źrebak nie potrafi galopować i porusza w charakterystyczny sposób kończynami miednicznymi. W trakcie badania stwierdzono przemieszczenie rzepki na obu kończynach miednicznych na zewnątrz. Możliwa była repozycja po premedykacji. Przeprowadzono zabieg operacyjny polegający na wytworzeniu sztucznego więzadła (protezy) przyśrodkowego rzepki i namarszczeniu torebki stawowej oraz powięzi. Pierwszy etap polegał na przeprowadzeniu zabiegu najpierw na jednej kończynie. Po całkowitym wygojeniu i rekonwalescencji, która trwała około 4 miesięcy, wykonano zabieg na kończynie przeciwnej. Źrebak wtedy ważył odpowiednio 200 i 290 kg. Zastosowano technikę opisaną przez O'Meara i Lischera, którą zmodyfikowano, ponieważ cytowani autorzy opisali zabieg zwichnięcia rzepki do przyśrodkka. W trakcie zabiegu użyto dwóch śrub dogąbczastych 3,2 mm, które umieszczono nad nasadą wzrostu w bliższym odcinku kości udowej od strony przyśrodkowej. Było to mocowanie dla sztucznie wytworzonego więzadła rzepki. Po zabiegu noga sprawiała wrażenie sztywnej i koń stawiał kopyto tylko na ścianie przedniej. Występowała kulawizna 3/5. Dodatkowo można było zaobserwować, że stawy: kolanowy i stępu były zgięte oraz sztywne sprawiając wrażenie unieruchomionych. Po zabiegu zastosowano postój w boksie trwający 2 tygodnie. Następnie wprowadzono ruch, który stopniowo zwiększano. Wprowadzanie śrub i przewlekanie nici przez rzepkę odbywało się pod kontrolą rtg. Dodatkowo namarszczono torebkę stawową, starając się nie przechodzić do wnętrza stawu. Następnie szwem „na zakładkę” – dachówkowo zszyto powięź. Podskórże i skórę zszyto, według zasad obowiązujących w chirurgii

**Wyniki i omówienie:** Jest to ciekawy przypadek ze względu na zastosowanie techniki zaproponowanej do leczenia zwichnięcia rzepki na przeciwną stronę (do przyśrodkka) oraz z powodu późnego rozpoznania wady i dużej masy operowanego zwierzęcia. Opisany powyżej przypadek chirurgicznego leczenia przemieszczenia rzepki zakończony został całkowitym powodzeniem.

#### Piśmiennictwo:

- [1] O'Mmeara B., Lischer C., Surgical management of d pony with a traumatic medial luxation of the patella. EVE, September 2009, 458–462.



## OCENA PRZYDATNOŚCI WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW HEMOSTAZY W MONITOROWANIU POOPERACYJNYM KONI

### USEFULNESS OF SELECTED COAGULATION PARAMETERS IN HORSES UNDERGOING COLIC SURGERY

Alicja Iwaszko-Simonik, Stanisław Graczyk, Aleksandra Pliszcak-Król

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Patofizjologii, Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: alicja.iwaszko@up.wroc.pl

Zaburzenia hemostazy rozwijające się w przebiegu morzysk u koni stanowią istotny czynnik, niekiedy decydujący o przebiegu i skuteczności leczenia. Uważa się, iż aktywacja krzepnięcia i fibrynolizy towarzysząca niedrożności jelit często przybiera postać zespołu rozsianego krzepnięcia wewnątrznaczyniowego (DIC – Disseminated Intravascular Coagulation). Zespół DIC towarzyszy głównie chorobom układu pokarmowego wymagającym interwencji chirurgicznej, stanowiąc najczęstszą przyczynę niepowodzeń terapeutycznych. Stąd też wykonanie diagnostycznych badań koagulologicznych, właściwa interpretacja wyników oraz szybkie podjęcie leczenia wielokrotnie zwiększają szanse na przeżycie chorych zwierząt.

**Cel pracy:** Ocena wybranych parametrów układu krzepnięcia i fibrynolizy u koni poddanych chirurgicznemu leczeniu niedrożności jelit.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 30 koni gorączkujących poddanych chirurgicznemu leczeniu niedrożności jelit. Grupę kontrolną stanowiło 20 koni niewykazujących objawów klinicznych. Krew do badań koagulologicznych pobierano do probówek zawierających 3,8% roztwór cytrynianu sodu (w stosunku 1:9), a następnie odwirowywano w celu uzyskania osocza. Materiał pobierano czterokrotnie: przed przystąpieniem do zabiegu, a następnie w 24., 48. oraz 72. godzinie po operacji. Oceny osoczowego układu krzepnięcia dokonano na podstawie czasu protrombinowego PT (prothrombin time), czasu trombinowego TT (thrombin time), czasu częściowo aktywowanej tromboplastyny APTT (activated partial thromboplastin time), stężenia fibrynogenu, aktywności antytrombiny (AT) i białka C oraz stężenia D-dimerów przy użyciu koagulometru Coag Chrom 3003.

**Wyniki i omówienie:** U wszystkich koni operowanych z powodu niedrożności jelit zanotowano sukcesywny spadek liczby płytek, znaczne wydłużenie czasu PT i APTT, niewielkie zmiany czasu TT oraz znaczny wzrost stężenia fibrynogenu i D-dimerów. Aktywność antytrombiny i białka C uległa znacznemu obniżeniu. Przeprowadzone badania wskazują, iż u koni leczonych operacyjnie z powodu niedrożności jelit osoczowy układ krzepnięcia i fibrynolizy ulega zaburzeniu, co stanowi zwiększone ryzyko rozwoju zespołu DIC. Mimo braku wyraźnych objawów klinicznych wystąpienia DIC wykazano u wszystkich badanych koni zmiany co najmniej 3 z 6 parametrów ogólnie przyjętych do oceny występowania zespołu rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego. W związku z tym można stwierdzić, iż u wszystkich badanych koni w przebiegu ostrej niedrożności wymagającej interwencji chirurgicznej rozwinął się subkliniczny DIC.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Levi M., Opal S.M., 2006. Coagulation abnormalities in critically ill patients. *Critical Care*, 10(4), 222–230.
- [2] Levi M., Schultz M., Poll T., 2011. Coagulation biomarkers in critically ill patients. *Critical Care Clinics*, 27, 281–297.
- [3] Monreal L., Angles A., Espada Y., Monasterio J., Monreal M., 2000. Hypercoagulation and hypofibrinolysis in horses with colic and DIC. *Equine Vet. J. Suppl.*, 32, 19–25.
- [4] Monreal L., Cesarini C., 2009. Coagulopathies in horses with colic. *Vet. Clin. Equine.*, 25, 247–258.



## OCENA INTEGRALNOŚCI CHROMATYNY PLEMNIKOWEJ W SCHŁODZONYM NASIENIU OGIERÓW

### ASSESSMENT CHROMATIN INTEGRITY OF CHILLED STALLION SPERM

Leszek Krakowski, Agata Wąchocka, Przemysław Bartoszek

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Rozrodu, Zakład Andrologii i Biotechnologii Rozrodu Zwierząt, e-mail: Leszek.krakowski@up.lublin.pl

Wśród wielu zmian zachodzących w plemnikach do najistotniejszych należy zaliczyć kondensację chromatyny jądrowej i defragmentację DNA. Uszkodzenie DNA plemnika może wynikać z inicjacji apoptozy w procesie spermatogenezy lub w czasie wędrówki plemników w drogach wyprowadzających. Obecnie pojawia się wiele doniesień wskazujących na kliniczne znaczenie oceny integralności DNA i apoptozy w ejakulowanych plemnikach, jak również w plemnikach poddanych konserwacji w niskich temperaturach.

**Cel badań:** Ocena integralności chromatyny plemnikowej w schłodzonym nasieniu ogierów przygotowanym do inseminacji podczas jego przechowywania w temperaturze +4°C.

**Materiał i metody:** Nasienie do badań pochodziło od 8 płodnych ogierów w tym 3 ogierów czystej krwi arabskiej w wieku 6–7 lat i 5 ogierów rasy zimnokrwistej w wieku 5–9 lat. Badane ogiery były klinicznie zdrowe, a nasienie ich regularnie wykorzystywano do sztucznej inseminacji. W pobranych ejakulatach określono: objętość, koncentrację, ruch i morfologię plemników. Następnie nasienie poddano badaniu w kierunku apoptozy i defragmentacji DNA, wykorzystując metodę cytometrii przepływowej.

**Wyniki i omówienie:** Badania wykazały, że w świeżym i rozrzedzonym nasieniu (czas 0), procent plemników żywych, tj. apoptozo-ujemnych (A-Pi-) wynosił średnio 71,0% u ogierów zimnokrwistych i 82,6% u ogierów czystej krwi. W tym samym czasie procent plemników z defragmentacją DNA określony został na poziomie 6,86 i 33,8%.

W 24. i w 48. godzinie przechowywania obserwowano powolny spadek żywotności plemników (A-Pi-), narastający wzrost odsetka plemników martwych z objawami nekrozy (A-Pi+) oraz wzrost uszkodzenia DNA. W 72. godzinie przechowywania ilość plemników żywych (A-Pi-) spadła do 61,3% u ogierów zimnokrwistych, i 47,7% u czystej krwi. W tym samym czasie procent plemników z defragmentacją DNA wynosił kolejno 50,3 i 59,1%. W kolejnych przedziałach czasowych, tj. w 96. i 120. godzinie stwierdzono dramatyczny spadek plemników (A-Pi-) oraz wzrost plemników z defragmentacją DNA (>60% u ogierów czystej krwi i 80% u ogierów zimnokrwistych). Wykazano dodatnią korelację pomiędzy czasem przechowywania nasienia a nasilaniem się apoptozy i defragmentacji DNA. Odnotowano również dodatnią korelację pomiędzy wzrostem stopnia defragmentacji DNA a spadkiem plemników żywych.

Badania autorów wskazują, że istotnym i bardzo ważnym wskaźnikiem określającym jakość nasienia jest zachowanie integralności chromatyny jądrowej oraz zachowanie integralności DNA plemników. Według wielu autorów analiza stopnia integralności DNA jest niezbędna do ustalenia wartości użytkowej ogiera, przydatności nasienia do konserwacji i jego wartości biologicznej.

Podsumowując, należy stwierdzić, że cytometryczna metoda oceny nasienia w kierunku apoptozy i integralności chromatyny jądrowej pozwala z jednej strony na szybką ocenę płodności ogiera, z drugiej zaś na określenie jakości nasienia przeznaczonego do inseminacji na każdym etapie jego przechowywania. Powinna ona być powszechnie wykorzystywana jako standardowa metoda oceny nasienia samców.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Love C.C., Thompson J.A., Lowry V.K., Varner D.D., 2001. The relationship between chromatin quality and fertility of chilled stallion sperm In: 47th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners San Diego, USA, 229–231.
- [2] Love C.C., Thompson J.A., Lowry V.K., Varner D.D., 2002. Effect of storage time and temperature on stallion sperm DNA and fertility. *Theriogenology*, 57, 1135–1142.



## WŁÓKNISTE ZWYRODNINIENIE KOŚCI U KUCÓW OSTEODYSTROPHIA FIBROSA IN PONNY

Agnieszka Pomorska, Krzysztof Lutnicki

*Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie. Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Zakład Chorób Wewnętrznych Zwierząt Gospodarskich i Koni, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin*

Wtórna żywieniowa osteodystrofia (WŻO), osteodystrofia włóknista, po raz pierwszy opisana w 400 r.n.e. jest stosunkowo rzadką chorobą, najczęściej opisywaną w krajach słabo rozwiniętych. Objawy mogą wystąpić w każdym wieku, bez względu na płeć czy rasę, jednak najczęściej u młodych koni. W stanie zaawansowanym choroby występuje obustronne powiększenie obrysu kostnego nad zatokami szczękowymi. Rozpoznanie potwierdzają badanie RTG i analiza zawartości wapnia i fosforu w surowicy krwi oraz moczu. W uzasadnionych przypadkach można wykonać badanie histopatologiczne biopopatów.

**Materiał i metody:** Do kliniki przyjęto 3 kuce rasy szetland, dwa ogiery i jedną klacz pony w wieku 2,5 roku. Właściciel posiadał je od około pół roku. Zwierzęta karmione były jedynie owsem. Pierwsze deformacje twarzoczaszki oraz świszczący oddech zaobserwowano u jednego ze źrebiąt latem poprzedniego roku, z czasem objawy narastały. Niezborność motoryczna, zaburzenia żucia pojawiały się kolejno u pozostałych koni. U jednego z nich objawy nie pozwalały na przyjmowanie pokarmu. Drugi z koni z ochwatem przednich kończyn i deformacją kości okolicy nosowo-szczękowej, trzeci z nich wykazywał jedynie nieznaczną deformację i przerost kośćca trzewioczaszki w miejscach charakterystycznych dla choroby.

**Wyniki i omówienie:** Badaniem RTG okolicy nosowo-szczękowej stwierdzono powiększenie jam szpikowych, warstwa korowa kości była ścięczała, a gruba okostna była obserwowana w okolicy rozdętych kości szczęki. Badanie endoskopowe zatok przynosowych nie było możliwe do wykonania z powodu zwężenia kanałów. Pierwszy z ogierów został poddany eutanazji z powodu zaawansowanych zmian chorobowych niepoddających się leczeniu. Badaniem sekcyjnym potwierdzono WŻO. Pozostałe zwierzęta po kilkutygodniowym intensywnym leczeniu mającym na celu normalizację gospodarki wapniowo-fosforowej i zmianie diety (duża zawartość Ca i niska P) zostały wypisane do domu. W ciągu następnego roku nie wystąpiła progresja choroby, ustąpiły objawy zapalenia tworzywa kopytowego, a okolica szczękowa u ogiera powróciła do normy, zaś u klaczy była ciągle zmieniona (pogrubiona).



## ZATRZYMANIE ŁOŻYSKA U KLACZY: NOWE SPOJRZENIE NA JEGO PRZYCZYNY RETAINED PLACENTA IN MARES: A NEW PERSPECTIVE AT ITS CAUSES

Anna Rapacz-Leonard<sup>1</sup>, Andrzej Raś<sup>1</sup>, Tomasz Janowski<sup>1</sup>, Katarzyna Paździor<sup>2</sup>, Tadeusz Rotkiewicz<sup>2</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, <sup>1</sup>Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, <sup>2</sup>Katedra Anatomii Patologicznej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn,  
e-mail: anna.rapacz@uwm.edu.pl

Zatrzymanie łożyska jest najczęstszą komplikacją okołoporodową u klaczy, występującą u ok. 10 do 54% z nich, szczególnie u ras zimnokrwistych. Etiologia tego schorzenia wciąż pozostaje niewyjaśniona, a rutynowo stosowane leczenie oksytocyną w wielu przypadkach jest nieskuteczne. Fizjologiczne odejście błon płodowych powinno nastąpić w okresie do 3 godzin po wyparciu płodu, po tym czasie uważa się łożysko za zatrzymane. Zalegające tkanki błon płodowych mogą prowadzić do zapalenia błony śluzowej macicy (*endometritis puerperalis*), które opóźnia proces jej inwolucji. Nie leczone zatrzymanie łożyska prowadzi w krótkim czasie do wystąpienia objawów ochwatu poporodowego. W wyniku uogólnionej intoksykacji oraz posocznicy może dojść do śmierci zwierzęcia.

**Cel badań:** Określenie możliwych przyczyn zatrzymania łożyska u klaczy zimnokrwistych.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 134 klaczach hodowlanych należących do rasy polski koń zimnokrwisty. Sto klaczy charakteryzowało się zatrzymaniem łożyska. Grupę kontrolną stanowiły 34 klacze, u których poród przebiegł fizjologicznie. Klacze podczas porodu były badane klinicznie, położniczo i ultrasonograficznie. Do badania histopatologicznego pobrano wycinki endometrium i błon płodowych (barwienie HE, błękitem toluidyny, PAS McManusa i Mallory trichrome). Pobrano próby krwi do badania biochemicznego (oznaczenie zawartości Ca i Mg). Następnie u krytych klaczy monitorowano przebieg i skuteczność krycia w trakcie dalszego sezonu rozrodczego.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie przeprowadzonych badań określono trzy kliniczne przyczyny zatrzymania łożyska u klaczy zimnokrwistych. Były nimi: 1) adhezja omocznikokosmówki do endometrium, spowodowana retencją kosmków w kryptach; 2) mechaniczne zakleszczenie końcówki rogu omocznikokosmówki; 3) atonia macicy. Najczęściej obserwowanym zjawiskiem towarzyszącym zatrzymaniu łożyska u badanych zwierząt była adhezja omocznikokosmówki do endometrium, która wystąpiła u 84% klaczy. Omawiana adhezja była statystycznie uzależniona ( $p < 0,01$ ) od wystąpienia czterech zmian histopatologicznych w błonach płodowych: intensywne zwłóknienie tkanek, przerost i powiększenie objętości tkanki łącznej, obrzmienie nabłonka kosmków oraz niedorozwój kosmków omocznikokosmówki. Zmiany histopatologiczne nie występowały u klaczy kontrolnych. Ponadto u klaczy z zatrzymaniem łożyska występowały hipokalcemia i hipomagnezemia. Niedobory wapnia i magnezu ulegały wyrównaniu w ciągu 9 dni po porodzie. Zatrzymanie łożyska wpływało na zaburzenia okresu poporodowego, poprzez spowolnienie inwolucji macicy i występowanie *endometritis puerperalis*. Zaistniałe czynniki istotnie obniżały żąrebielność klaczy krytych w rui żrebięcej w porównaniu z klaczami kontrolnymi. Uzyskane wyniki wskazują, że adhezja omocznikokosmówki do endometrium może być bezpośrednią przyczyną większości przypadków zatrzymania łożyska u klaczy zimnokrwistych. Zależność pomiędzy tym zjawiskiem a występowaniem innych zmian histopatologicznych w omocznikokosmówce pozwala przypuszczać, że przyczyny zatrzymania łożyska u klaczy mają bardziej złożony charakter.

### Piśmiennictwo:

- [1] Hospes R., Huchzermeyer S., 2004. Behandlung der Retentio secundinarum bei der Stute nach einem 4-Stufen-Programm e ein Rückblick auf 36 Fälle. Pferdeheilkunde, 20, 498–504.
- [2] Sevinga M., Barkema H.W., Hesselink J.W., 2002. Serum calcium and magnesium concentrations and the use of a calcium-magnesiumborogluconate solution in the treatment of Friesian mares with retained placenta. Theriogenology, 57, 941–947.

Praca wykonana w ramach grantu KBN N N308 175138 pod kierunkiem prof. dr. hab. Andrzeja Rasia.





## POZIOM $Fe^{+2}$ WE KRWI KONI ZARAŻONYCH SŁUPKOWCAMI Z RODZAJU *CYATHOSTOMINAE* LECZONYCH IWERMEKTYNĄ

### IRON ( $Fe^{+2}$ ) LEVEL IN IVERMECTIN TREATED HORSES INFECTED WITH *CYATHOSTOMINE*

Małgorzata Raś-Noryńska, Rajmund Sokół

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: małgorzata-ras@uwm.edu.pl

Zarażenie nicieniami z rodziny *Cyathostominae* dotyczy niemal 100% populacji koni korzystających z pastwisk. Najczęściej brak u nich wyraźnych objawów zarażenia i obserwuje się zmiany przypisywanych innym jednostkom chorobowym. Często też występują zmiany ilościowe i jakościowe wskaźników hematologicznych i biochemicznych krwi.

**Cel pracy:** Prześledzenie zmian w poziomie żelaza ( $Fe^{+2}$ ) we krwi koni przed i po leczeniu iwermektyną.

**Materiał i metody:** Badania prowadzono w 2010 i 2011 r. w dwóch stadach koni gorąco krwistych liczących po 30 szt. zwierząt. Próbkę kału pobrane indywidualnie od każdego zwierzęcia zbadano metodą flotacji wg zmodyfikowanej metody McMastera. Po wykryciu jaj nicieni – koniom wydającym powyżej 200 jaj w 1 g kału, tj. dla 42 szt. zwierząt podano iwermektynę w dawce zalecanej przez producenta (Biowet Drwa-lew). Krew do badań biochemicznych pobrano bezpośrednio przed leczeniem oraz 4. i 60. dnia od podania leku.

**Wyniki:** Otrzymane wyniki badań wskazują, że u koni zarażonych słupkowcami i będących w dobrej kondycji poziom żelaza ( $Fe^{+2}$ ) we krwi był w normie fizjologicznej (śr. 192,26  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ). Po zastosowaniu iwermektyny uzyskano 100% redukcję liczby wydalanych jaj (FEC) i obserwowano martwe pasożyty w kale do 4 doby. W tym okresie stwierdzono statystycznie istotne obniżenie poziomu żelaza we krwi średnio do wartości 160,08  $\mu\text{g}/\text{dl}$  oraz kolejne statystycznie istotne obniżenie poziomu żelaza (106,22  $\mu\text{g}/\text{dl}$ ) w momencie ponownego pojawienia się jaj słupkowców w pobieranym kale, czyli 60. dnia od dnia leczenia.

**Omówienie:** W ocenie prevalencji pasożytów wewnętrznych u koni coraz częściej wykonywane są badania krwi. Z naszych badań wynika, że można do nich włączyć badanie poziomu żelaza, ponieważ stwierdziliśmy obniżenie jego poziomu kilka dni po leczeniu, co może świadczyć o występującym krwawieniu z uszkodzonej ściany jelita grubego spowodowanym odczepianiem się porażonych lekiem dorosłych nicieni, a po 60. dniu o ponownej utracie krwi w czasie opuszczania guzków robaczych przez larwy L4 pod błoną śluzową jelita. Obniżenie poziomu żelaza po odrobaczeniu może pośrednio korelować z intensywnością inwazji oraz być wskaźnikiem oceny inwazji słupkowców małych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Love S., Murphy D., Mellor D., 1999. Pathogenicity of cyathostome infection. *Vet. Parasitol.*, 85, 113–122.
- [2] Murphy D., Love S., 1997. The pathogenic effects of experimental cyathostome infections in ponies. *Equine, Vet.* 14, 322–324.
- [3] Pawlas-Opiela M., Sołtysiak Z., Gorczykowski M., 2010. Morphological and biochemical changes in the blood of horses naturally infected with *Gasterophilus* sp. larvae. *Pol. J. Vet. Sci.*, 13 (2), 247–251.
- [4] Snarska A., Romaniuk K., 2005. Zmiany biochemiczne krwi koników polskich w przebiegu gasterofilozji. *Med. Wet.*, 61 (4), 455–457.



## ANALIZA SEKWENCJI ORF5 I ORF7 IZOLATÓW WIRUSA ZAPALENIA TĘTNIC KONI UZYSKANYCH OD OGIERA TRWALE ZAKAŻONEGO

### SEQUENCE ANALYSIS OF ORF5 AND ORF7 OF EQUINE ARTERITIS VIRUS ISOLATES OBTAINED FROM PERMANENTLY INFECTED STALLION

Jerzy Rola, Wojciech Socha, Jan Franciszek Żmudziński

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Wirusologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: jrola@piwet.pulawy.pl

Wirus EAV, podobnie jak inne wirusy RNA, charakteryzuje się dużą zmiennością genetyczną. Zróżnicowanie to jest wynikiem błędów popełnianych przez polimerazę RNA podczas replikacji genomu wirusa. Mało dokładna replikacja sprawia, że wirus EAV nie tworzy genetycznie jednorodnej populacji gatunków, lecz występuje w formie tzw. *quasi*-gatunków. Ustalono, że w trakcie zakażenia trwałego, w ciągu roku, we fragmencie genomu EAV długości 2822 nukleotydów (ORFs 2-7) w przybliżeniu 1% nukleotydów ulega zmianie. Może to prowadzić do pojawiania się wariantów wirusa o nowych właściwościach fenotypowych. Kluczową rolę w epidemiologii zakażenia EAV odgrywają ogiery trwale zakażone, gdyż są one permanentnymi siewcami wirusa i stanowią główne źródło zakażenia w stadzie.

**Cel badań:** Identyfikacja zmian genetycznych zachodzących w genomie wirusa podczas zakażenia trwałego EAV.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki nasienia pobrane od ogiera rasy małopolskiej, który był trwałym nosicielem i siewcą wirusa EAV. W sumie w okresie od 2003 do 2010 r. pobrano od tego ogiera 10 ejakulatów. Ekstrakcję całkowitego RNA z nasienia przeprowadzono z wykorzystaniem zestawu QIAamp Viral RNA Mini Kit, a otrzymany RNA służył jako matryca do reakcji RT-PCR. W prezentowanym doniesieniu, do powielenia materiału genetycznego, użyto starterów dla genów ORF5 i ORF7 kodujących odpowiednio glikoproteinę GP5 i białko nukleokapsydu N.

**Wyniki i omówienie:** Sekwencjonowaniu poddano produkty PCR wszystkich 10 szczepów/izolatów wirusa wyosobnionych od opisanego ogiera. Dla genu ORF7 analizie porównawczej poddano fragment wielkości 277 nt (pozycje 66-343). W obrębie analizowanego fragmentu stwierdzono tylko jedną mutację punktową w pozycji 255. U szczepów izolowanych od 2003 do 2007 r. w łańcuchu nukleotydowym ORF7 w pozycji tej występuje nukleotyd T (kodon GCT), natomiast u szczepów z 2009 i 2010 r. jest nukleotyd C (kodon GCC). Zamiana nukleotydu T na C w powyższym kodonie nie spowodowała zmiany kodowanego aminokwasu. Jeśli chodzi o gen ORF5 analizie zmienności poddano fragment wielkości 666 nt (pozycje 4-670). W obrębie tego odcinka sekwencje nukleotydowe wyosobnionych izolatów różniły się maksymalnie 16 nukleotydami (3 mutacje niesynonimiczne i 13 mutacji synonimicznych). Mutacje niesynonimiczne powodujące zmianę aminokwasu wystąpiły u szczepów izolowanych w 2009 i 2010 r. w pozycji 11 aa (Leu → Phe) i 90 aa (Ile → Met) oraz u szczepów z 2005, 2006, 2009 i 2010 r. w pozycji 141 aa (Val → Ala).

#### Piśmiennictwo:

- [1] Balasuriya U.B.R., Hedges J.F., Nadler S.A., McCollum W.J., Timoney P.J., MacLachlan N.J., 1999. Genetic stability of equine arteritis virus during horizontal and vertical transmission in an outbreak of equine viral arteritis. *J. Gen. Virol.*, 80, 1949–1958.



## RESPIRATOR W ZNIECZULENIU OGÓLNYM KONI – WYGODA CZY KONIECZNOŚĆ?

### VENTILATOR DURING GENERAL ANAESTHESIA IN HORSES – COMFORT OR NECESSITY?

Marta Szmigielska, Kornel Ratajczak, Radomir Henklewski, Anna Biazik

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii,  
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: marta261@interia.pl

Zaburzenia wentylacji (wymiany gazowej) są zasadniczą komplikacją znieczulenia ogólnego u koni, prowadzącą do hiperkapnii i hipoksemii. W przypadku krótkich zabiegów u zwierząt zdrowych, mających wydolne mechanizmy kompensacyjne organizmu, zaburzenia te nie muszą prowadzić do istotnych klinicznie konsekwencji. Mogą one nawet, przy braku odpowiedniej aparatury monitorującej, pozostać niezauważone. Jednakże przy zabiegach długotrwałych, wielogodzinnych, przeprowadzanych na zwierzętach w bardzo ciężkim stanie ogólnym (np. kolki) – nabierają ogromnego znaczenia. Nie skorygowane w porę – stają się przyczyną zgonu śródoperacyjnego, powikłań okresu wybudzania z narkozy, a także komplikacji pooperacyjnych. W nie powikłanych przypadkach prostym rozwiązaniem większości z tych problemów wydaje się być sztuczna wentylacja – w wielu ośrodkach stosowana już rutynowo przy znieczuleniach ogólnych tego gatunku zwierząt.

**Cel pracy:** Ustalenie skuteczności stosowanej w klinice wentylacji z użyciem respiratora. Oceny dokonano na podstawie porównania wskaźników wymiany gazowej ( $\text{PaO}_2$ ,  $\text{PaCO}_2$ , pHa) koni znieczulanych z zachowaniem oddechu spontanicznego (OS) i koni wentylowanych sztucznie (OK).

**Materiał i metody:** Badania dotyczyły 35 koni różnych ras i w wieku, znieczulonych ogólnie do zabiegów operacyjnych przeprowadzanych w pozycji grzbietowej. Zwierzęta oddychające 100%  $\text{O}_2$  podzielono na dwie grupy: grupa OS (n=20) i grupa OK (n=15). U tej ostatniej zaraz po indukcji znieczulenia wdrożono sztuczną wentylację (PIP 20-30  $\text{cmH}_2\text{O}$ , RR 6-8). W czasie znieczulenia wymianę gazową oceniano na podstawie wyników gazometrii krwi tętnicznej. Analizie retrospektywnej poddano 3 najważniejsze parametry –  $\text{PaO}_2$ ,  $\text{PaCO}_2$  oraz pHa krwi.

**Wyniki i omówienie:** W grupie OS u 9 koni (45%) odnotowano wartości  $\text{PaO}_2 < 70$  mmHg. U 8 (40%) pHa krwi w trakcie zabiegu spadło poniżej 7,2. U wszystkich odnotowano wartości  $\text{PaCO}_2$  wyższe niż 60 mmHg. Wśród tych koni u 15 pacjentów (75%)  $\text{PaCO}_2$  przekraczało 70 mmHg, a u 10 pacjentów (50%) wartość tego wskaźnika wynosiła nawet 80 mmHg.

Konie z grupy OK wykazywały znacznie niższe wartości  $\text{PaCO}_2$ , wyższe  $\text{PaO}_2$  oraz pHa krwi niż konie z grupy OS. Tylko u 3 koni grupy OK (20%) odnotowano spadek wartości  $\text{PaO}_2$  poniżej 70 mmHg. Wartość  $\text{PaCO}_2$  wyższa niż 60 mmHg wystąpiła tylko u 3 koni (20%) i tylko w pierwszym badaniu gazometrycznym, po indukcji znieczulenia. U żadnego pacjenta  $\text{PaCO}_2$  nie przekroczyło 70 mmHg, u żadnego też pHa krwi nie spadło poniżej 7,2. Korzystne wartości ww. parametrów udało się, w większości przypadków, utrzymać przez cały czas trwania zabiegu. Nie zaobserwowano depresyjnego wpływu sztucznej wentylacji na monitorowane parametry krążeniowe (HR, MAP).

**Wnioski:** Przeprowadzone badania porównawcze wykazały u koni znieczulanych z zachowanym oddechem spontanicznym znaczny stopień niewydolności oddechowej.

Użycie respiratora podtrzymującego oddech sztuczny od początku znieczulenia – jest niezbędne do utrzymania korzystnych warunków wymiany gazowej pacjenta w trakcie anestezji, co znajduje potwierdzenie w wartościach gazometrii krwi tętnicznej.



## BADANIA IN VITRO NAD WYKORZYSTANIEM STABILIZATORA ZEWNĘTRZNEGO WŁASNEJ KONSTRUKCJI W LECZENIU ZŁAMAŃ TRZONU KOŚCI ŚRÓDRĘCZA III U KONI

### AN IN VITRO INVESTIGATION OF AN EXTERNAL SKELETAL STABILIZER OWN CONSTRUCTION IN THE TREATMENT OF DIAPHYSEAL FRACTURES OF MC III IN HORSES

Bernard Turek<sup>1</sup>, Tomasz Szara<sup>2</sup>, Cezary Wajler<sup>3</sup>, Teresa Gumuła<sup>3</sup>, Andrzej Potyński<sup>4</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, <sup>2</sup>Katedra Nauk Morfologicznych

<sup>3</sup>Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Katedra Biomateriałów Wydziału Inżynierii Materiałowej i Ceramiki

<sup>4</sup>Politechnika Warszawska, Wydział Mechatroniki

e mail: turekbernard@go2.pl

**Cel badań:** Ocena przydatności stabilizatora zewnętrznego własnej konstrukcji w leczeniu złamań poprzecznych trzonu kości śródreżca trzeciej u koni.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły kości śródreżca trzeciej i stabilizator zewnętrzny własnej konstrukcji. Kości pobierano od zdrowych koni w wieku powyżej 2 lat poddanych ubojowi w rzeźni. Badania wstępne obejmowały ocenę osteometryczną i radiologiczną zgromadzonych kości. Ocena osteometryczna polegała na wykonaniu serii pomiarów według standardów zaproponowanych przez Von Den Driescha [1].

Ocena radiologiczna polegała na wykonaniu zdjęć rentgenowskich kości w projekcji przednio-tylnej [2].

Badania zasadnicze obejmowały określenie wartości siły maksymalnej w teście na trójpunktowe zginanie (kości lewe) i w teście na ściskanie wzdłuż długiej osi kości (kości prawe). Badania objęły kości niezłamane (10 par kości) i kości złamane zespolone za pomocą stabilizatora (15 par kości).

**Wyniki i omówienie:** Ocena osteometryczna – wartości średnie (mm) przedstawiały się następująco; 1 – 249, 2 – 60, 3 – 43, 4 – 61, 5 – 38, 6 – 32, 7 – 45.

Ocena radiologiczna nie wykazała istotnych zmian badanych kości.

Wartości średnie siły maksymalnej (kN) dla kości niezłamanych wynosiły – zginanie 18,79, ściskanie – 69,91. Wartości średnie siły maksymalnej (kN) dla kości złamanych i zespolonych za pomocą stabilizatora wynosiły odpowiednio; zginanie – 2,79, ściskanie 25,82.

Uzyskane wartości siły maksymalnej dla kości złamanych i zespolonych za pomocą stabilizatora pozwalają twierdzić, że stabilizacja złamania wykonana za pomocą stabilizatora własnej konstrukcji jest wystarczająca, aby poddać obciążeniom, jakie mogą się pojawić w trakcie wstawiania konia po operacji.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Driesch von den A., 1978. A guide to the measurement of animal bones from archeological sites. Peabody Museum Bulletin, 1, Harvard Univ, 1–137.
- [2] Butler J.A., Colles Ch.M., Dyson S.J., Kold S.E., Poulus W.P.: Clinical radiology of the horse. 3rd edition 2008, Blackwell Science, 131–170.
- [3] Sullins K.E., McIlwraith C.W., 1987. Evaluation of 2 Types of External Skeletal Fixation for Repair of Experimental Tibial Fractures in Foals. Veterinary Surgery, 16, 4, 255–264.



## ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY AKTYWNOŚCIĄ ENDOMETRIUM, JAJNIKA I NEUTROFILI U KLACZY W OKRESIE OKOŁOPORODOWYM

### THE RELATION BETWEEN ACTIVITY OF ENDOMETRIUM, OVARY, AND NEUTROPHILS IN MARES IN PERIPARTUM PERIOD

Joanna Wessely-Szponder<sup>1</sup>, Leszek Krakowski<sup>2</sup>, Urszula Kosior-Korzecka<sup>1</sup>, Ryszard Bobowiec<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, Zakład Patofizjologii, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin,

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, Zakład Andrologii i Biotechnologii Rozrodu, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Zakażenia macicy u klaczy są jedną z głównych przyczyn niepłodności lub obniżonej płodności prowadzących do znacznych strat ekonomicznych. Przejściowa infekcja i zapalenie endometrium są nieuniknionym następstwem krycia klaczy, jednak jeśli proces zapalny w środowisku wewnątrzmacicznym przedłuża się, niemożliwe jest utrzymanie ciąży. Mechanizmy obronne macicy obejmują złożone interakcje pomiędzy różnymi elementami, takimi jak: komórki zapalne, hormony sterydowe, czynniki infekcyjne. Ostatnio zaburzenia immunologiczne są brane pod uwagę jako ważna przyczyna idiopatycznej niepłodności u klaczy.

**Cel pracy:** Zbadanie zależności pomiędzy statusem hormonalnym i aktywnością neutrofilów u klaczy w okresie okołoporodowym jako czynnikami mającymi wpływ na skuteczność krycia w pierwszej rui po porodzie.

**Materiał i metody:** Badanie przeprowadzono na 12 żrebnych klaczach zimnokrwistych. Klacze sklasyfikowano jako odporne (O) lub podatne (P) na *endometritis* na podstawie wywiadu, badania klinicznego, badania ultrasonograficznego oraz skuteczności zapłodnienia w pierwszej rui po porodzie. Krew pobierana była w następujących przedziałach czasowych: do 14 dni przed porodem, do 48 godz. po porodzie, 9 dni po porodzie, 24 godz. po kryciu, a także 48 godz. po owulacji. Aktywność neutrofilów oceniana była na podstawie uwalniania elastazy i mieloperoksydazy (MPO) oraz wytwarzania tlenku azotu (NO). Ponadto w obu grupach metodą wysoko sprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) oznaczano stężenia estrogenów (estradiolu i estronu) w osoczu.

**Wyniki i omówienie:** Neutrofile izolowane z krwi klaczy opornych pobranej do 14 dni przed porodem wykazały uwalnianie elastazy na poziomie  $53,7 \pm 4,61\%$  maksymalnego uwalniania, podczas gdy u klaczy podatnych w tym pomiarze kształtowało się ono na poziomie  $41,6 \pm 4,21\%$  maksymalnego uwalniania. Uwalnianie MPO było najwyższe 24 godz. po kryciu i wynosiło  $25,89 \pm 5,08\%$  u klaczy opornych, a  $19,44 \pm 1,00\%$  u podatnych. Najwyższy poziom estrogenów u klaczy stwierdzono w okresie przedporodowym (O –  $212,3 \pm 11,45$  pg/ml; P –  $181,05 \pm 8,69$  pg/ml). W obu grupach bezpośrednio po porodzie ulegał on obniżeniu do około 11,5 pg/ml. Zarówno w okresie rui, jak i 24 godz. po kryciu stężenie estrogenów było istotnie statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) wyższe u klaczy opornych w porównaniu z podatnymi (ruja: O –  $50,10 \pm 2,96$  pg/ml; P –  $32,20 \pm 2,47$  pg/ml; po kryciu: O –  $48,72 \pm 2,97$  pg/ml; P –  $31,75 \pm 2,19$  pg/ml). Przeprowadzone badania wykazały zmniejszoną aktywność neutrofilów pochodzących od klaczy podatnych na *endometritis* w porównaniu z aktywnością neutrofilów od klaczy opornych. Ponadto u klaczy opornych aktywność neutrofilów malała wraz ze zmniejszającym się stężeniem estrogenów, podczas gdy u klaczy podatnych nie zaobserwowano takiej zależności.





## BADANIE SŁUCHOWYCH POTENCJAŁÓW WYWOŁANYCH PNIA MÓZGU W DIAGNOSTYCE ZABURZEŃ UKŁADU NERWOWEGO U KONI

### THE USE OF BRAINSTEM AUDITORY EVOKED POTENTIALS EXAMINATION AS A DIAGNOSTIC TOOL IN NERVOUS SYSTEM DISTURBATION OF HORSES

Marcin Wrzosek<sup>1</sup>, Artur Niedźwiedź<sup>1</sup>, Elżbieta Giza<sup>1</sup>, Hieronim Borowicz<sup>1</sup>,  
Jakub Nicpoń<sup>2</sup>, Józef Nicpoń<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: marcin.wrzosek@up.wroc.pl; <sup>2</sup>Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław

Ocena funkcji układu nerwowego u koni przeprowadzana jest za pomocą badania neurologicznego oraz metod specjalistycznych w postaci różnorodnych technik elektrodiagnostycznych. Wśród badań ośrodkowego układu nerwowego (OUN) u koni przeprowadzane jest badanie słuchowych potencjałów wywołanych pnia mózgu (ang. brain stem auditory evoked response, BAER). Największą wartość kliniczną mają potencjały wczesnolatencyjne, do których należą słuchowe potencjały wywołane pnia mózgu (BAER), których zapis składa się z fal reprezentujących aktywność neuronalną szeregu struktur mózgowych zlokalizowanych głównie w pniu mózgu aż do wzgórza.

**Cel badań:** Ocena funkcji pnia mózgu u grupy referencyjnej zdrowych koni oraz zastosowanie metody słuchowych potencjałów wywołanych pnia mózgu jako metody diagnostycznej w przebiegu wybranych chorób neurologicznych koni.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzone zostały na 9 koniach zdrowych oraz 7 koniach ze stwierdzoną chorobą neurologiczną. U wszystkich koni wykonano pełne badanie kliniczne, badanie otoskopowe oraz szczegółowe badanie neurologiczne. Do badania BAER wszystkie konie zostały wprowadzone w sedację za pomocą detomidyny w dawce 5–10 mg, dożylnie w połączeniu z butorfanolem 5 mg dożylnie. Badanie słuchowych potencjałów wywołanych pnia mózgu przeprowadzono za pomocą urządzenia Viking Quest z oprogramowaniem Viking Producer. Stymulacje miały natężenie bodźca o częstotliwości 11 Hz, 1000 impulsów i głośności początkowo 75 dB, 90 dB, następnie 105 dB. U wszystkich badanych zwierząt wykonano również badanie progu słuchowego poprzez stymulację dźwiękową po 300 impulsów w zakresie od 10 do 70dB, podwyższając intensywność dźwięku co 10 dB.

**Wyniki i omówienie:** W badanej grupie koni zdrowych (n=9), w wieku 2–5 lat (mediana 3), wałachy 3, ogiery 2, klacze 4, rasy śląskiej, badania kliniczne, neurologiczne, krwi oraz moczu nie wykazały odchyłeń od normy. We wszystkich zapisach BAER tej grupy zidentyfikowano fale I, II, III, IV oraz V obustronnie. U wszystkich koni z grupy kontrolnej fale VI oraz VII nie były możliwe do zidentyfikowania. W grupie koni zdrowych określono próg słuchowy na poziomie 30dB u 6 koni oraz 40 dB u 3 koni. Nie stwierdzono żadnych istotnych statystycznie różnic pomiędzy płcią. W grupie koni z zaburzeniami neurologicznymi (n=7) 4 koni stanowiły konie rasy śląskiej, 1 wielkopolskiej i 1 hucuł, wiek 3–17 lat (mediana 7), 4 wałachy, 3 klacze. W tych przypadkach zdiagnozowano uszkodzenie nerwu przedsionkowo-ślimakowatego (NC VIII) w wyniku urazu głowy w trakcie treningu u 3 koni, zakażenie worków powietrznych prowadzące do uszkodzenia nerwu VIII u 2 koni, a w 2 przypadkach głuchotę nabytą, starczą.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Aleman M., Puchalski S.M., Williams D.C., Kass P.H., Holliday T.A., 2008. Brainstem auditory evoked responses in horses with temporohyoid osteoarthropathy. *J. Vet. Intern. Med.*, 22, 1196–1202.
- [2] Harland M.M., Stewart A.J., Marshall A.E., Belknap E.B., 2006. Diagnosis of deafness in a horse by brainstem auditory evoked potential. *Can. Vet. J.*, 47, 151–154.



## ANALIZA ZACHOWANIA MATCZYNEGO KLACZY ORAZ STANU ZDROWIA ŻREBIĄT PO PORODZIE

### ANALYSIS OF MATERNAL BEHAVIOUR OF MARES AND THE CONDITION OF FOALS AFTER PARTURITION

Urszula Żurek, Janusz Danek

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Zakład Rozrodu i Ochrony Zdrowia Zwierząt, ul. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, e-mail: jdanek@wp.pl

Okres neonatalny w hodowli koni jest niezwykle ważny ze względu na wpływ na zdrowie i płodność klaczy, jak i oddziaływanie na rozwój źrebięcia. Analiza behawioru matczynej klaczy połączona z oceną stanu zdrowia nowo narodzonego źrebięcia umożliwia zapewnienie odpowiedniego poziomu dobrostanu tych zwierząt. Między behawiorem a zdrowiem istnieje ścisły związek, dlatego wczesne zaobserwowanie patologii w zachowaniu zwierzęcia umożliwia udzielenie skutecznej pomocy.

**Cel badań:** Określenie wzajemnych oddziaływań klaczy-źrebię oraz ocena ewentualnych zaburzeń.

**Materiał i metody:** Obserwacje zachowania matczynej klaczy oraz kondycji źrebiąt – noworodków przeprowadzono podczas trzech sezonów wyźrebień, w latach 2009–2011. Badaniami objęto 34 klacze oraz ich źrebięta. W grupie tej znalazły się 4 rasy: czysta krew arabska (18 klaczy), konik polski (9 klaczy), półkrew angloarabska (6 klaczy) oraz koń fryzyjski (1 klacz). Wyliczono średni czas wykonywanych czynności oraz procentowy ich udział w odniesieniu do ogółu czasu, w którym obserwacje były prowadzone, który przyjęto jako 100%. W celu obliczeń wykorzystano program komputerowy do analizy statystycznej SAS Enterprise Guide 4.3. Klacze podzielono ze względu na rasę (klacze czystej krwi arabskiej – pozostałe) oraz status (pierwiastka – wieloródka). Źrebięta podzielone zostały według płci (klaczka – ogierek).

**Wyniki i omówienie:** Jakość więzi między klaczą a źrebięciem może być określona poprzez częstotliwość i czas trwania takich zachowań jak pielęgnacja, karmienie lub elementy normalnej matczynej agresji [1]. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono wpływ wieku klaczy na czas pobierania paszy przez klacz w czasie pierwszej godziny po porodzie. Im starsza była klacz, tym więcej czasu przeznaczala na pobieranie paszy. Zachowania agresywne wobec swojego źrebięcia lub wobec sąsiednich klaczy zarejestrowano u matek, u których stwierdzono zaburzenia poporodowe. Zaburzenia poporodowe mogą wpływać na jakość behawioru matczynej klaczy w pierwszym okresie po porodzie [2]. Kolejną znaną korelacją był wpływ czasu samodzielnego wstania źrebięcia na czas pobrania siary od matki. Im później noworodek stanął o własnych siłach na nogi, tym później pobierał wartościową siarę od matki. Wysoko istotnie okazała się zależność między czasem pierwszego ssania a ogólnym czasem pobierania siary. Im wcześniej pobrana była przez źrebię siara po raz pierwszy, tym więcej czasu noworodek przeznaczył na pobranie siary w całym okresie obserwacji.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Waran N.K., Clarke N., Farnworth M.L., 2008. The effects of weaning on the domestic horse (*Equus caballus*). *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 110, 42–57.
- [2] Żurek U., Danek J., 2011. Maternal behaviour in mares and the condition of foals after parturition. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 55, 451–456.

**SEKCJA  
FIZJOLOGII I PATOLOGII  
NOWORODKA**





## INTENSYWNA OPIEKA NAD NOWORODKIEM

### INTENSIVE CARE OF NEWBORN CALVES

John F. Mee

*Teagasc, Animal & Bioscience Research Department, Moorepark, Fermoy, Ireland, john.mee@teagasc.ie*

Okres okołoporodowy (0–48 godz.) jest obarczony największym ryzykiem w życiu wszystkich zwierząt. Około 75% śmiertelności okołoporodowej przypada na pierwszą godzinę porodu. Około 90% cieląt, które zdychają w okresie perinatalnym (cielęta z „grupy ryzyka”), było żywe na początku akcji porodowej, a znacznej części tych strat można by zapobiec dzięki intensywnej opiece nad noworodkiem.

Cielę z „grupy ryzyka” w okresie okołoporodowym jest definiowane jako takie, które ma podwyższone ryzyko choroby lub śmierci. Czynniki ryzyka związane z takimi cielętami obejmują przyczyny z okresu przed zapłodnieniem, np. niepowodzenie szczepień przeciw patogenom płodów, przyczyny okresu ciąży, np. niedobory mikroelementów, a także czynniki związane z porodem, np. brak nadzorowania przedłużających się porodów. Efektem tego jest zwiększone ryzyko śmierci cielęcia przed lub podczas porodu, jego słabość po urodzeniu albo uleganie powszechnym infekcjom neonatalnym, czyli przynależność do „grupy ryzyka”.

#### „Złota godzina”

Koncepcja „złotej godziny” zapożyczona z medycyny ratunkowej może zostać zastosowana w intensywnej opiece nad cielętami z „grupy ryzyka”. To pojęcie dotyczy zasady szybkiego ocenienia i interwencji w celu zapobieżenia następstwom. Ocena stanu zdrowia w opiece pediatrycznej noworodków bydłowych z „grupy ryzyka” w pierwszej godzinie życia obejmuje badanie etologiczno-kliniczne, resuscytację, o ile jest konieczna, antyseptykę pępownicy, pojenie siarą i odsadzenie cielęcia.

#### 1. Badanie etologiczno-kliniczne

Cielęta z grupy wysokiego ryzyka mogą zostać zidentyfikowane a) przed narodzeniem – poprzez przewidywanie ciężkiego porodu na podstawie obserwacji matki, rasy i charakterystyki cielęcia; b) podczas porodu – na podstawie wielkości kończyn, obrzęku języka, sieniei śluzawicy i błon śluzowych a także słabych odruchów lub c) po urodzeniu – bezdech, zaleganie na boku, wiotkość mięśni, nieprawidłowy rytm serca, słabe odruchy międzypalcowy i ssania.

#### 2. Reanimacja cieląt

Około 1/3 cieląt, które padają w okresie perinatalnym, ma częściowo powietrzne płuca. Jeśli nie mają innych uszkodzeń, mogą być ratowane poprzez intensywną opiekę. Ostatnie badania wykazały, że bezpośrednio po urodzeniu cielęta z umiarkowaną zamartwicą powinny być stymulowane poprzez obniżenie temperatury dzięki polaniu zimną wodą w czasie, gdy są zawieszane do 90 sekund głową w dół. Kiedy dojdzie do udrożnienia dróg oddechowych, cielę powinno zostać ułożone w pozycji mostkowej. Sztuczne oddychanie powinno zostać podjęte w przypadkach, gdy cielę nie odpowiedziało na wstępne postępowanie. Istnieją sprzeczne oceny co do skuteczności niektórych stymulatorów farmakologicznych, ale ostatnio wykazano, że w przypadkach zamartwicy bardzo dobrą skuteczność wykazuje doxapram. Intensywna terapia tlenowa nie jest zbyt powszechna w przypadku reanimacji cieląt, niedawne badania wskazują, że może ona poprawić przeżywalność w przypadkach zespołu zaburzeń w oddychaniu (respiratory distress syndrome). Roztwory buforujące zawierające kwaśny węglan sodu są z powodzeniem stosowane do poprawy równowagi kwasowo-zasadowej u cieląt z okołoporodową kwasicią.

#### 3. Zaopatrzenie pępownicy

Zapobieganie omphalophlebitis obejmuje odpowiednie zaopatrzenie w mikroelementy w diecie płodu, dobrą higienę porodówki, ograniczenie czasu przebywania cieląt w niehigienicznych boksach porodowych i zapewnienie wczesnej podaży dobrej jakości siary. Mimo że jest to powszechnie stosowane, nie ma kontrolowanych badań wykazujących korzyści ze stosowania jodyny w ograniczaniu zapalenia pępownicy. Ostatnio przeprowadzone badania wykazały, że zaciskanie pępownicy i jej zanurzenie (dipping) w odpowiednich roztworach antyseptycznych zmniejszają występowanie zapaleń pępownicy w porównaniu z brakiem dippingu (statystycznie istotnie) lub użycia 0,5 – 7% jodyny (liczbowo). Jeśli choroby pępownicy nie stanowią problemu,





proponowane jest utrzymanie dotychczasowego sposobu odkażania pępowiny, jeśli jednak problem występuje, należy wycofać się ze szkodliwych procedur.

#### 4. Karmienie siarą

„Zasada 1,2,3” karmienia siarą: 1 = używać pierwszego doju tylko dla nowo narodzonych cieląt, 2 = podać siarę przed upływem 2 godzin życia, 3 = podać co najmniej 3 litry. Lepiej podać odpowiednią ilość siary sondą przelkową, niż karmić niedostateczną objętością ze strzyka lub z wiadra. Poprawność odpojenia siarą można sprawdzić poprzez zmierzenie stężenia immunoglobulin w surowicy (np. test, ZSTT, oznaczając białko całkowite i in.) u 5 cieląt w wieku poniżej 2 tygodni.

#### 5. Oddzielanie cieląt po urodzeniu

Szybkie wycielanie jest zalecane w fermach bydła mlecznego Ameryki Północnej jako najlepsza procedura i polega na zabraniu cielęcia od krowy, zanim zacznie ono wstawać i próbować ssać, czyli zwykle przed upływem 15 minut po urodzeniu. Jest to potwierdzone przez badania, które wykazały, że porodówki zwykle zawierają wysoką liczebność drobnoustrojów i im dłużej cielę pozostaje w tym niehigienicznym środowisku, tym bardziej rośnie ryzyko infekcji jelitowych. W dodatku, pozwolenie cielęciu ssać krowę jest związane ze wzrostem ryzyka niedoboru odporności siarowej (FPT). Opóźnienie odłączenia cielęcia od krowy i pozostawienie mu czasu na ssanie znacznie zwiększają ryzyko transmisji *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*.



# WPŁYW ŻYWIENIA MATKI PODCZAS CIĄŻY NA ROZWÓJ PŁODU I NOWORODKA

## EFFECTS OF MATERNAL NUTRITION DURING PREGNANCY ON FETAL AND POSTNATAL DEVELOPMENT

**Cornelia C. Metges**

*Leibniz Institute for Farm Animal Biology, Research Unit Nutritional Physiology, 18196 Dummerstorf, Germany, metges@fhn-dummerstorf.de*

Podczas rozwoju płodowego organizm wykazuje pewien zakres plastyczności. W odpowiedzi na stresory środowiska lub bodźce żywieniowe płód adaptuje się na drodze najlepszej na przeżycie. Ta swoista adaptacja może w pewnych sytuacjach oddziaływać niekorzystnie na zdrowie i wzrost w późniejszym życiu, kiedy osobnik ma pełny dostęp do składników odżywczych i energii. Zjawisko wczesnej adaptacji morfologicznej i/lub funkcjonalnej w okresie krytycznego okna rozwoju jest nazywane programowaniem płodowym albo metabolicznym. W efekcie tego programowania często dochodzi do nieodwracalnych zaburzeń endokrynno-metabolicznych, które mogą ujawnić się we wczesnych lub późniejszych etapach życia. Badania epidemiologiczne u ludzi i kontrolowane badania na zwierzętach wskazują, że niedożywienie matki, jak też jej nadmierne lub błędne żywienie odbijają się na wzroście i rozwoju potomstwa [1, 5]. Z drugiej strony, suplementacja żywieniowa (np. aminokwasy funkcjonalne, kwasy tłuszczowe) we wczesnych etapach życia jest w stanie naprawiać konsekwencje naturalnie występującego śródmacicznego zahamowania wzrostu (intrauterine growth retardation, IUGR). Ostatnio zostały podjęte także badania na zwierzętach gospodarskich w zakresie programowania płodowego w zakresie wzrostu, reaktywności na insulinę czy zdolności immunologicznych [6]. Najczęściej wykorzystywanym modelem w badaniach nad krótko- i długoterminowymi konsekwencjami programowania we wczesnych etapach życia jest model niedoboru białka u samic gryzoni (rodent maternal low protein model, MLP) [2], który został przez nas wykorzystany w badaniach na świniami w porównaniu z modelem niedoboru węglowodanów u matki (high-protein:low carbohydrate model) [3, 4].

Celem tego doniesienia jest przegląd konsekwencji interwencji żywieniowych we wczesnych etapach życia za pośrednictwem matki ciężarnej oraz w okresie laktacji, ze szczególną uwagą kierowaną na świnie. Ponadto omówione zostaną niektóre zaburzenia metaboliczne u matki oraz mechanizmy będące prawdopodobnie podstawą programowania rozwoju.

### Piśmiennictwo

- [1] Gluckman P.D., Hanson M.A., 2006. Adult disease: echoes of the past. *Eur J Endocrinol* 155, Suppl 1, S47–50.
- [2] Langley-Evans S.C., Bellinger L., McMullen S., 2005. Animal models of programming: early life influences on appetite and feeding behaviour. *Matern, Child Nutr.*, 1, 142–8.
- [3] Metges C.C., Lang I.S., Hennig U., Brüssow K.-P., Kanitz E., Tuchscherer M., Schneider F., Weitzel J., Ooster A., Sauerwein H., Bellmann O., Nürnberg G., Rehfeldt C., Otten W., 2012. Intrauterine growth retarded progeny of pregnant sows fed high protein:low carbohydrate diet is related to metabolic energy deficit. *PLoS ONE* 72, e31390.
- [4] Rehfeldt C., Lang I.S., Görs S., Hennig U., Kalbe C., Stabenow B., Brüssow K.-P., Pfuhl R., Bellmann O., Nürnberg G., Otten W., Metges C.C., 2011. Limited and excess dietary protein during gestation affects growth and compositional traits in gilts and impairs offspring fetal growth. *J. Anim. Sci.*, 89, 329–341.
- [5] Wu G., Bazer F.W., Cudd T.A., Meininger C.J., Spencer T.E., 2004. Maternal nutrition and fetal development. *J. Nutr.*, 134, 2169–72.
- [6] Wu G., Bazer W., Wallace J.M., Spencer T.E. 2006. Board-invited review: intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. *J. Anim. Sci.*, 84, 2316–37.

*Praca finansowana przez granty German Research Association (DFG), Niemieckiego Ministerstwa Edukacji i Badań oraz Komisji Europejskiej.*



## ROZWÓJ UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO U PRZEŻUWACZY W OKRESIE PRE- I POSTNATALNYM

### DEVELOPMENT OF IMMUNE SYSTEM IN RUMINANTS IN PRE- AND POSTNATAL PERIOD

**Tadeusz Stefaniak, Anna Chełmońska-Soyta, Joanna Bajzert, Paulina Jawor, Anna Rząsa,  
Ondrasz Sitnik**

*Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław,  
e-mail: tadeusz.stefaniak@up.wroc.pl*

Układ odpornościowy przeżuwaczy rozwija się od wczesnych etapów życia płodowego. W końcowej fazie ciąży płód jest zdolny do odpowiedzi immunologicznej na antygeny obce. Pierwotnym narządem limfatycznym dla limfocytów B jest kępka Peyera jelita krętego. Wysoka podatność młodych przeżuwaczy na infekcje ma związek z niedoborem transferu odporności siarowej i niższą aktywnością niektórych mechanizmów odporności nieswoistej (niska aktywność dopełniacza). Niedobór lub częściowy niedobór transferu odporności siarowej mogą powstać wskutek oddziaływania wielu czynników zależnych od noworodka, matki lub człowieka. Zrozumienie funkcji układu odpornościowego noworodka, jego odmienności od tego układu u zwierząt dorosłych powinno pomóc w unikaniu błędów w postępowaniu, a także w ochronie ich zdrowia.

Układ odpornościowy uczestniczy nie tylko w obronie przed czynnikami infekcyjnymi, ale nadzoruje rozwój i integralność tkankowo-narządową całego osobnika, wpływa na funkcje innych narządów. Jego rozwój i funkcja są zależne od wielu czynników oddziałujących w okresie pre- i postnatalnym. Człowiek znacznie i często nieumiejętnie ingeruje w procesy powstawania odporności zwierząt, powodując wzrost ryzyka ich zachorowań i śmierci. Poznanie mechanizmów zaangażowanych w regulację rozwoju układu odpornościowego pozwoli na unikanie błędów i być może także modulowanie jego rozwoju, zwłaszcza w przypadkach zaburzeń powstałych we wczesnych etapach rozwoju osobniczego.

#### **Piśmiennictwo:**

- [1] Nowak R., Poindron P., 2006. From birth to colostrum: early steps leading to lamb survival. *Reprod. Nutr. Dev.*, 46, 431–446.
- [2] Stefaniak T., Chełmońska-Soyta A., Leibold W., 2011. Odporność noworodków, [w:] Skrzypczak W., Stefaniak T., Zabielski R.(red.) *Fizjologia noworodka z elementami patofizjologii*. PWRiL, Warszawa, 145–181.



## ROZWÓJ PRZEWODU POKARMOWEGO PROSIĄT. MOŻLIWOŚCI ODDZIAŁYWANIA

### DEVELOPMENT OF THE GASTROINTESTINAL TRACT IN PIGS. POSSIBILITIES TO INFLUENCE IT

Romuald Zabielski<sup>1</sup>, Tomasz Skrzypek<sup>2</sup>, Michał Mickiewicz<sup>1</sup>, Michał Godlewski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Katedra Nauk Fizjologicznych Wydział Medycyny Weterynaryjnej, e-mail: rzabielski@plusnet.pl

<sup>2</sup>Laboratorium Mikroskopii Elektronowej, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Katolicki Uniwersytet Lubelski, Lublin

Dynamiczny rozwój przewodu pokarmowego noworodków jest inicjowany pierwszym pobraniem siary. Do szczególnie intensywnie rozwijających się struktur należy błona śluzowa jelita cienkiego. W jej rozwoju, poza intensywnym objętościowym wzrostem tkanek, obserwuje się także nasilone procesy przebudowy, szczególnie w nabłonku jelitowym. W pierwszych 2–3 dniach po urodzeniu przebudowa nabłonka jelitowego, oparta na wymianie tzw. enterocytów płodowych na enterocyty dorosłe, prowadzi do zamknięcia bariery jelitowej, warunkującej przenikanie biologicznie aktywnych białek i peptydów siary do organizmu noworodka. Enterocyty płodowe wyposażone w system cystern i pęcherzyków w wierzchołkowej części komórki odpowiadają za gromadzenie nieselektywnie wchłanianych makromolekuł siary, głównie biologicznie aktywnych białek i peptydów. Wypełnione białkami pęcherzyki łączą się ze sobą, tworząc olbrzymie wakuole w środkowej części enterocytu (tzw. wakuole transportowe). Zawartość wakuol transportowych jest przenoszona do części podstawnej komórki i tam uwalniana do przestrzeni pozakomórkowej, skąd dociera do naczyń krwionośnych i limfatycznych kosmków jelitowych bez utraty biologicznej aktywności transportowanych molekuł. Wymiana enterocytów płodowych z wakuolami transportowymi na enterocyty dorosłe (pozbawione olbrzymich wakuol) zamyka barierę jelitową. W ciągu kolejnych kilkunastu dni wymianie ulega także inna pula enterocytów płodowych, w których zawartość olbrzymich wakuoli ulega trawieniu z udziałem enzymów lizosomalnych, wspomagając tym samym procesy trawienia składników treści pokarmowej. Proces przebudowy błony śluzowej jelita kończy się u nowo narodzonych prosiąt w 3.–4. tygodniu życia wymianą wszystkich enterocytów płodowych z wakuolami trawiennymi na enterocyty dorosłe pozbawione zdolności do tworzenia takich struktur. Proces wymiany enterocytów jest tak zaprogramowany, że wiele rozwojowych parametrów struktury nabłonka może być użytych jako markery do oceny stopnia rozwoju błony śluzowej jelita. Zmianom na poziomie komórek towarzyszą charakterystyczne zmiany w architekturze kosmków oraz wielkości powierzchni absorpcyjnej błony śluzowej jelita. Badania wykazały, że wiele czynników może mieć wpływ na tempo przebudowy błony śluzowej jelita zarówno hamujący, jak i pobudzający. Do czynników hamujących należą przede wszystkim brak pokarmu lub żywienie noworodków bez udziału siary i mleka. Do czynników pobudzających proces dojrzewania, a tym samym rozwoju, zalicza się całą gamę białek i peptydów regulacyjnych siary i mleka, kwasów tłuszczowych, aminokwasów (arginina, lizyna), poliamin, nukleotydów, antyoksydantów i wielu innych. Do czynników szczególnie silnie pobudzających podziały komórek krypt jelitowych i przebudowę nabłonka zalicza się maślan oraz fitohemaglutyninę – lektynę fasoli zwyczajnej. Część z nich znalazła już swoje zastosowanie praktyczne w postaci dodatków do pasz podawanym prosiątom przed odsadzeniem i zaraz po odsadzeniu. Dzięki ich stosowaniu w prestarterach udaje się uzyskać cechy błony śluzowej jelita charakterystyczne dla obserwowanych po odsadzeniu na kilka, kilkanaście dni przed właściwym odsadzeniem, co znacznie łagodzi skutki oddzielenia prosiąt od matki. Problemem pozostaje zachowanie nowo narodzonych prosiąt, część z nich nie ma ochoty pobierać paszy stałej do czasu odsadzenia od matki. Jedynym wyjściem pozostaje podanie doustne/dożołądkowe preparatów. Co ciekawe, zauważono, że pobudzenie przebudowy jelita podaniem lektyny fasoli napędza u ssących prosiąt pobranie prestartera. Ostatnie badania wykazały, że prosięta o niskiej wadze urodzeniowej, charakteryzujące się wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrostu płodu (IUGR), cechuje istotne spowolnienie procesów rozwoju błony śluzowej jelita i w porównaniu z prosiętami normalnych prosiąt o wiele mniejsza podatność na stymulację przebudowy nabłonka. Z uwagi na dużą częstotliwość występowania zespołu IUGR u prosiąt konieczne są nowe badania nad możliwościami oddziaływania na rozwój jelita u tych prosiąt.



## STATUS IMMUNOLOGICZNY CIELĄT NOWORODKÓW ODPAJANYCH SIARĄ MATEK IMMUNIZOWANYCH W OKRESIE CIĄŻY

### THE IMMUNOLOGICAL STATUS IN NEWBORN CALVES FED COLOSTRUM DERIVED FROM DAMS VACCINATED DURING PREGNANCY

Dariusz Bednarek, Katarzyna Dudek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Chorób Bydła i Owiec, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: dbednarek@piwet.pulawy.pl

**Cel badań:** Ocena wpływu immunizacji ciężarnych krów inaktywowaną szczepionką zawierającą antygeny: BRSV, PI3 oraz *Mannheimia. haemolytica* na status immunologiczny nowo narodzonych cieląt odpojonych siarą pochodzącą od matek szczepionych.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 52 nowo narodzonych cielętach w okresie od 1. do 12. tygodnia życia. Zwierzęta te pochodziły zarówno od matek szczepionych (gr. doświadczalna), jak i nieszczepionych (gr. kontrolna). Szczepionkę podawano dwukrotnie w 8. i 4. tyg. przed porodem w iniekcji podskórnej (5 ml s.c. Bovilis Bovipast RSP). Siarę otrzymywały cielęta przez pierwsze 3 dni po porodzie w ilościach zgodnych z ogólnie przyjętymi zasadami. Krew do badań laboratoryjnych pobierano raz w tygodniu do 12. tyg. życia. Oznaczano następujące wskaźniki: miano swoistych przeciwciał anti-BRSV, PI3, BHV1, BVDV, Adenowirus 3 i *M. haemolytica*, zawartość białka całkowitego (BC), immunoglobulin klasy A, M, G oraz stężenie białek ostrej fazy (BOF): Hp i SAA w surowicy.

**Wyniki i omówienie:** Wyniki badań wskazują na istotnie wyższe miano swoistych przeciwciał anti-BRSV w surowicy krwi cieląt pochodzących od matek szczepionych, wykazane już w pierwszym tygodniu badania i utrzymujące się do końca doświadczenia (12. tydzień życia). Podobne zależności zaobserwowano również w odniesieniu do przeciwciał anti-PI3. Warto także podkreślić bardziej stabilny poziom przeciwciał dla pozostałych badanych wirusów (BHV1, BVDV, Adeno 3), mimo że szczepionka stosowana w immunizacji krów nie zawierała tychże antygenów. Wskazywać to jednak może na niespecyficzny charakter stymulacji immunologicznej, jaką ta szczepionka ma również w odniesieniu do innych antygenów wirusowych. U cieląt od matek szczepionych wykazano też bardziej stabilny poziom przeciwciał anti-*M. haemolytica*, jak i w wartościach BOF. Istotny wzrost tych ostatnich u cieląt kontrolnych (Hp, SAA), notowany zwłaszcza w 7.–8. tyg. życia, wskazywać bowiem może na aktywne infekcje, które miały miejsce u zwierząt mniej odpornych na zakażenie w okresie wygasania biernej odporności siarowej związanej z wyczerpywaniem się rezerw immunoglobulin siarowych. W tym kontekście – lepsze warunki do życia miały cielęta od matek szczepionych, których immunoglobuliny klasy IgM, G i A utrzymywały się na istotnie wyższych niż w kontroli poziomach, przez cały okres obserwacji.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Schroedl W., Fuerll B., Reinhold P., Krueger M., Schuett C., 2001. A novel acute phase marker in cattle: lipopolysaccharide binding protein (LBP). *J Endotoxin Res.* 7, 49–52.
- [2] Dudek K., Bednarek D., Szymańska-Czerwińska M., 2009. Szczepienia ochronne przeciwko zakażeniom wywołanym przez *M. haemolytica* i ich znaczenie w profilaktyce syndromu oddechowego bydła, [w:] Wakcynologia perspektywy rozwoju i jej znaczenie w profilaktyce chorób zakaźnych bydła. Monografia pod red. D. Bednarek, 4, 61–66.





## NADMIAR LAKTOZY W DIECIE A HORMONALNA REGULACJA BILANSU WODNO-ELEKTROLITOWEGO U CIELĄT W PIERWSZYM MIESIĄCU ŻYCIA

### THE DIETARY EXCESS OF LACTOSE AND HORMONAL REGULATION OF WATER AND ELECTROLYTE BALANCE IN CALVES DURING THE FIRST MONTH OF LIFE

Alicja Dratwa-Chałupnik, Katarzyna Michałek, Małgorzata Ożgo, Agnieszka Herosimczyk, Adam Lepczyński, Wiesław F. Skrzypczak

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki, ul. Doktora Judyma 6, 71-466 Szczecin, e-mail: Alicja.Dratwa-Chalupnik@zut.edu.pl

Zaburzeniom wodno-elektrolitowym, na skutek utraty wody i elektrolitów zarówno drogą nerkową, jak i pozanerkową, przypisuje się największy udział w znacznej śmiertelności neonatalnej, która u cieląt kształtuje się średnio na poziomie 10–15%. Niewłaściwe żywienie jest jedną z przyczyn strat wody i elektrolitów przez przewód pokarmowy. Nadmierna podaż laktozy noworodkom może skutkować gromadzeniem się tego dwucukru w przewodzie pokarmowym, gdzie poprzez związanie wody, zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia biegunki. Za utrzymanie prawidłowego bilansu wodno-elektrolitowego odpowiedzialne w głównej mierze są nerki. W okresie pourodzeniowym zachodzi stopniowe dojrzewanie systemów hormonalnych odpowiedzialnych za regulację czynności nerek.

**Cel badań:** Ocena udziału przedsionkowego peptydu natriuretycznego, aldosteronu i wazopresyny w regulacji bilansu wodno-elektrolitowego u cieląt po podaniu nadmiaru laktozy w preparacie mlekozastępczym.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 8 cielętach, byczkach rasy polsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej w trzech okresach pierwszego miesiąca życia: od 6. do 9., od 13. do 16. oraz od 20. do 23. dnia życia. Karmienie preparatem mlekozastępczym odbywało się przez cały okres doświadczenia, dwukrotnie o godz. 7<sup>00</sup> i 17<sup>00</sup> w ilości 10% masy ciała. W 6., 13. i 20. dniu życia (podczas wieczornego karmienia) oraz w 7., 14., i 21. dniu życia (podczas rannego karmienia) do preparatu mlekozastępczego dodawano jednowodną laktozę (firmy Pharma Cosmetic) w ilości 1 g/kg m.c. We krwi zbieranej przed wieczornym karmieniem cieląt oznaczono metodą radioimmunologiczną koncentrację hormonów.

**Wyniki i omówienie:** W 1. tygodniu życia badanych cieląt koncentracja ANP w osoczu krwi (przed podaniem nadmiaru laktozy) wynosiła 76,12 pg/ml, obniżyła się w 2. tygodniu (64,32 pg/ml), a następnie wzrosła do 77,85 pg/ml w 3. tygodniu. Odwrotne zmiany obserwowano przy stężeniu aldosteronu we krwi. Najniższą koncentrację tego hormonu zaobserwowano w 3. tygodniu życia cieląt 49,59 pg/ml (kiedy to stężenie ANP było najwyższe), a najwyższą wartość w 2. tygodniu (64,22 pg/ml), przy najniższej koncentracji ANP. W 1. tygodniu życia cieląt koncentracja aldosteronu wynosiła 59,84 pg/ml. Powyższe wyniki mogą wskazywać, że już w okresie neonatalnym istnieje interakcja pomiędzy tymi dwoma hormonami. Koncentracja wazopresyny w osoczu krwi cieląt malała z wiekiem z 3,71 pg/ml (w 1. tygodniu życia) przez 2,18 pg/ml, do 1,78 pg/ml (w 3. tygodniu życia cieląt). Po podaniu nadmiaru laktozy zaobserwowano obniżenie się koncentracji w osoczu krwi aldosteronu i wazopresyny oraz wzrost ANP we wszystkich trzech grupach wiekowych zwierząt. Dowodzi to czynnościowego związku pomiędzy hormonami działającymi antydiuretycznie i antynatriuretycznie (wazopresyna, aldosteron) a ANP działającym natriuretycznie i diuretycznie w regulacji bilansu wodno-elektrolitowego u cieląt w 1. miesiącu życia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Gemelli M., Mami C., de Luca F., Stelitano L., Bonaccorsi P., Martino F., 1991. Atrial natriuretic peptide and renin-aldosterone relationship in healthy newborn infants. *Acta Paediatr. Scand.*, 80, 1128–1133.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, nr N N311 016239.



## WPŁYW DODATKU LAKTOZY W DIECIE NA ZMIANY NERKOWEJ REGULACJI WYDALANIA WODY U CIELĄT W PIERWSZYM MIESIĄCU ŻYCIA

### INFLUENCE OF LACTOSE ADDITION INTO DIET ON RENAL WATER EXCRETION IN CALVES DURING THEIR FIRST MONTH OF LIFE

**Katarzyna Michalek, Alicja Dratwa-Chałupnik, Małgorzata Ożgo, Agnieszka Herosimczyk, Adam Lepczyński, Andrzej K. Ciechanowicz, Wiesław F. Skrzypczak**

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Wydział Biotechnologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Fizjologii, Cytobiologii i Proteomiki, ul. Doktora Judyma 6, 71-466 Szczecin, e-mail: katarzyna.michalek@zut.edu.pl

Czynnościowo niedojrzałe nerki cieląt charakteryzuje mniejsza w porównaniu z osobnikami dorosłymi zdolność zarówno do produkcji zagęszczonego moczu, jak i wydalania nadmiaru wody. Ze względu na wąską rezerwę czynnościową nerek oraz dużą dynamikę zmian procesów trawiennych we wczesnym okresie pourodzeniowym – cielęta szczególnie narażone są na zaburzenia bilansu wodno-elektrolitowego, spowodowane najczęściej nieprawidłowym ich żywieniem.

**Cel badań:** Analiza wpływu dodatku laktozy w diecie na zmiany nerkowej regulacji wydalania wody u cieląt w 1. miesiącu życia.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 8 cielętach, buhajkach rasy polsko-fryzyskiej odmiany czarno-białej. Próby osocza krwi oraz moczu pobierano każdorazowo przed porannym karmieniem w trzech eksperymentalnych okresach: od 6. do 8. dnia życia, od 13. do 15. dnia życia i od 20. do 22. dnia życia cieląt. W poszczególnych okresach badawczych cielętom podawano dwukrotnie preparat mlekozastępczy z dodatkiem laktozy w ilości 1 g/kg masy ciała. W zebranych próbach osocza krwi oznaczono m.in. ciśnienie osmotyczne oraz koncentrację kreatyniny, mocznika i wapnia. W moczu dokonano wstępnej analizy ekspresji akwaporyny 2 z zastosowaniem przeciwciał anti-AQP2 H7661 (Water and Salt Research Centre, Aarhus University, Dania).

**Wyniki i omówienie:** Ciśnienie osmotyczne osocza krwi cieląt przez cały analizowany okres utrzymywało się na względnie stałym poziomie i wynosiła średnio 280 mmol/kgH<sub>2</sub>O. Koncentracja kreatyniny oraz mocznika w osoczu krwi cieląt w kolejnych okresach badawczych była względnie stabilna i wynosiła odpowiednio: 103,0 i 2,92 mmol/l. Nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych w koncentracji analizowanych składników po podaniu laktozy wraz z preparatem mlekozastępczym. Stężenie wapnia całkowitego u cieląt od 6 do 22 dnia wynosiło średnio 2,69 mmol/l. W drugim tygodniu życia stwierdzono statystycznie mniejszą koncentrację tego pierwiastka po podaniu cielętom wraz z mlekiem laktozy. Zmniejszenie koncentracji wapnia w osoczu krwi może istotnie przyczynić się do zmian nerkowego wydalania akwaporyny 2 i wody. Na podstawie wstępnych analiz ekspresji AQP2 w moczu stwierdzono, iż wydalanie nerkowe tego białka i tym samym zdolność do kanalikowej resorpcji wody u cieląt noworodków jest niższa w porównaniu z osobnikami dorosłymi.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Zelenina M., Li Y., Glorieux I., Arnaud C., Cristini C., Decramer S., Aperia A., Casper C., 2006. Urinary aquaporin 2 excretion during early human development. *Pediatr Nephrol*, 21, 947–952.
- [2] Valenti G., Laera A., Pace G., Aceto G., Lospalluti M.L., Penza R., Selvaggi F.P., Chiozza M.L., Svelto M., 2000. Urinary aquaporin 2 and calciuria correlate with the severity of enuresis in children. *J. Am. Soc. Nephrol*, 11, 1873–1881.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, nr N N311 016239.



## WPŁYW TERMINU PODAŻY INIEKCYJNEJ FE NA KSZTAŁTOWANIE SIĘ PARAMETRÓW UKŁADU CZERWONOKRWINKOWEGO U PROSIĄT

### THE INFLUENCE OF FE INJECTION TIME ON THE RED CELL SYSTEM MATURITY IN PIGLETS

**Anna Rząsa, Stanisław Graczyk, Marianna Gemra, Grzegorz Łuczak, Artur Zyzak,  
Aleksandra Pliszcak-Król, Alicja Iwaszko-Simoniuk, Michał Sucholiński, Wiktor Szymczak**

*Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: anna.rzasa@up.wroc.pl*

Duże zapotrzebowanie prosiąt na żelazo sprawia, że zgromadzone w okresie płodowym zapasy szybko się wyczerpują, a mleko matki i pasza nie są w stanie zaspokoić wysokiego zapotrzebowania szybko rosnącego organizmu. Sytuacja ta sprzyja rozwojowi niedokrwistości fizjologicznej, a w jej następstwie zaburzeń w rozwoju i zwiększonej podatności na zachorowania. W celu zapobieżenia następstwom rozwijającej się niedokrwistości standardem jest podawanie prosiętom żelaza jeszcze przed pojawieniem się jej klinicznych objawów [2]. Bardzo często technologia chowu związana m.in. z wyrównywaniem miotów wymusza wcześniejsze terminy niektórych zabiegów profilaktycznych, co nie zawsze wydaje się słuszne z fizjologicznego punktu widzenia. Ostateczny efekt stosowanej profilaktyki żelazem wydaje się zależeć nie tylko od drogi i formy podania, bezwzględного poziomu żelaza, ale również od dojrzałości i sprawności ustrojowych układów uczestniczących w regulacji gospodarki żelazowej ustroju, w tym sprawności endogennych układów antyoksydacyjnych (wit. E, seleniu itp.). Przy okazji prowadzonych badań w doświadczalnym obiekcie zauważono wyraźną hemolizę w pobieranych w 2. dniu życia próbkach krwi prosiąt. W obiekcie tym prosięta standardowo dostawały Fe w 1. dniu życia. Stąd celem badań była ocena zasadności iniekcji Fe prosiętom w 1. dniu życia, co jest często wymuszane technologią chowu.

**Materiał i metody:** Obserwacjami objęto 54 prosięta mieszańce wbp x pbz z 6 miotów przydzielone do 3 grup doświadczalnych. Prosięta otrzymywały w iniekcji domięśniowej po 1 ml preparatu Ferran 200, grupa I – w 1. dniu życia, grupa II w 4. dniu życia, grupa III (kontrolna) nie otrzymała preparatu żelazowego. W 5. dniu życia po pobraniu krwi do badań prosięta z grupy III ze względu na wymogi technologiczne obiektu również dostały w iniekcji Fe.

Krew do badań pobierano z żyły szyjnej zewnętrznej, trzykrotnie tj. w 2., 5. oraz 17. dniu życia prosiąt. W pobranej krwi, za pomocą automatycznego analizatora hematologicznego (Procan 6800), oznaczano liczbę erytrocytów, leukocytów i trombocytów oraz wartość hematokrytu i poziom hemoglobiny. W osoczu oceniano poziom żelaza i bilirubiny całkowitej oraz całkowitą siłę antyoksydacyjną – FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) [1].

#### Wyniki i omówienie:

Tabela 1. Poziomy wybranych parametrów krwi prosiąt w 5. i 17. dniu życia

Grupa		Hb [mmol/l]		RBC [10 <sup>12</sup> /l]		FRAP [μmol/l]		Fe [μmol/l]		Bilirubina [μmol/l]	
		5	17	5	17	5	17	5	17	5	17
I	x	9,51	10,69	3,79	4,62	593,83	474,42	11,98	6,61	3,03	4,76
	±	1,51	2,50	0,81	1,19	204,01	125,84	8,23	3,63	2,51	3,74
II	x	8,48	9,57	3,33	3,88	608,41	516,48	25,54	5,78	4,30	5,45
	±	1,92	1,85	0,7	0,66	96,17	170,9	51,97	7,15	3,94	4,65
III	x	6,27		2,84		426,49		14,03		0,63	
	±	0,93		0,39		50,05		1,74		0,10	

Uzyskane wyniki potwierdzają wpływ terminu podaży żelaza na kształtowanie się ocenianych parametrów jak i „jakość” komórek, czego m.in. efektem jest zmniejszenie występowania hemolizy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Benzie I.F.F., Strain J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *analytical Biochemistry*, 239, 70–76.
- [2] Svoboda M., Drábek J., 2007. Intramuscular versus subcutaneous administration of iron dextran in suckling piglets *ACTA VET. BRNO* 76: S11-S15.

*Badania finansowane przez MNISzW (grant Nr N N311 265038).*

## ZMIANY BIAŁEK OSTREJ FAZY W CYKLU PRODUKCYJNYM TUCZNIKÓW

### CHANGES IN THE LEVEL OF ACUTE PHASE PROTEINS DURING THE PRODUCTION TIME OF FATTENERS

Anna Rząsa, Grzegorz Łuczak, Artur Zyzak

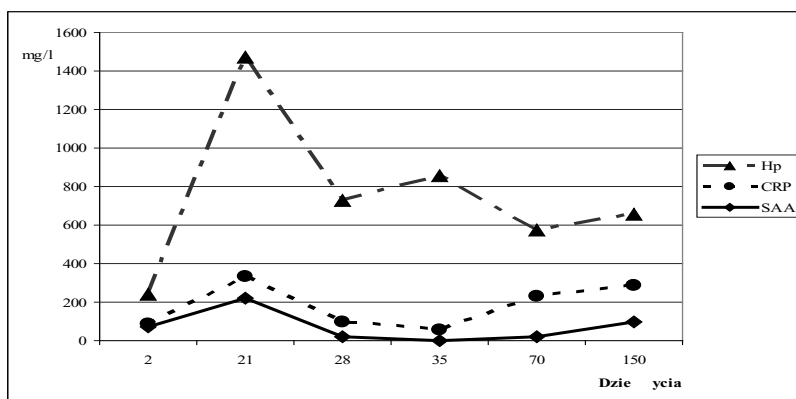
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: anna.rzasa@up.wroc.pl

Białka ostrej fazy (bof) są czułymi wskaźnikami zaburzenia homeostazy organizmu wywołanego czynnikami infekcyjnymi bądź nieinfekcyjnymi. W monitorowaniu stanu zdrowia zwierząt powinno się oznaczać kilka bof różniących się czasem reakcji na bodziec zapalny. Zbiorcza interpretacja dynamiki zmian ich stężenia pozwala ocenić naturę zapalenia jak i różnicować procesy ostre od przewlekłych. Wykorzystanie bof w monitoringu stanu zdrowia świń w toku produkcji umożliwia wykrycie zagrożeń, zanim dojdzie do klinicznych objawów zachorowań.

**Cel pracy:** Określenie dynamiki zmian bof w trakcie wzrostu i dojrzewania zdrowych klinicznie świń.

**Materiał i metody:** Obserwacjami objęto 70 mieszańców wbp<sub>x</sub>pb<sub>z</sub> od 2. (po wystandaryzowaniu miotów) do 150. dnia życia. Zwierzęta zważono w 2. dniu życia oraz w dniach przemieszczania do kolejnych sektorów: 28. (odchowalnia), 70. (tucz). Krew do badań pobierano z żyły czołowej przedniej w: 2., 21., 28. (odsadzenie), 35., 70. (przerzut na tucz) i 150. dniu życia. W surowicy przy wykorzystaniu komercyjnych testów firmy Tridelta Development (Multispecies SAA ELISA kit oraz Porcine C-Reactive Protein Assay) oznaczono SAA i białko CRP, a haptoglobinę (Hp) oznaczono metodą gwajakolową według Jones i Mould [1984].

**Wyniki i omówienie:** Na wykresie przedstawiono dynamikę zmian koncentracji SAA, CRP i Hp u rosnących tuczników.



Wyraźny wzrost koncentracji ocenianych bof w 21. dniu życia prosiat można wiązać ze szczególnym pobudzeniem ich układu immunologicznego w tym okresie. Jest to związane z rozwojem odporności czynnej i wyczerpywaniem się immunoglobulin matczynej. Zazwyczaj po odsadzeniu obserwujemy około dwutygodniowy okres zahamowania wzrostu, wtedy też często pojawiają się symptomy zachorowań. W 35. dniu obserwowano jedynie lekkie podwyższenie stężenia Hp, nie było zaś widocznych zmian pozostałych białek. Różnice te można wytłumaczyć charakterem odpowiedzi ocenianych białek. Hp jako białko późno reagujące dłużej utrzymuje podwyższoną koncentrację, podczas gdy białka szybko reagujące wracają w tym czasie do poziomów wyjściowych. Wzrost stężenia oznaczanych bof w 70. i 150. dniu życia należy traktować jako fizjologiczny, związany z rozwojem i dojrzewaniem zwierząt. Znajomość dynamiki zmian bof w trakcie wzrostu i rozwoju świń pozwala wyodrębnić okresy, gdy zwierzęta są szczególnie podatne na zachorowania, i przygotować właściwą strategię postępowania z nimi. Ustalenie zakresów referencyjnych/fizjologicznych bof u świń w różnym wieku ułatwi szybkie wykrywanie stanu, gdy przełamane zostaną własne bariery obronne organizmu.

#### Piśmiennictwo:

[1] Jones G.E., Mould D.L., 1984. Adaptation of the guaiacol (peroxidase) test for haptoglobins to a microtitration plate system. Res. Vet. Sci., 37, 87–92.

Badania finansowane przez MNiSzW (grant Nr N N311 265038).



## DYNAMIKA STĘŻENIA IMMUNOGLOBULIN W SUROWICY CIELĄT OTRZYMUJĄCYCH DODATEK IGY DO KARMY

### COURSE OF THE SERUM IMMUNOGLOBULIN CONCENTRATION IN CALVES FED WITH FODDER SUPPLEMENTED WITH IGY

Ondrasz Sitnik, Paulina Jawor, Wiesław Kopeć, Teresa Skiba, Georgij Kurtasov, Tadeusz Stefaniak

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, pl. Grunwaldzki 31, 50-375 Wrocław, e-mail: tadeusz.stefaniak@up.wroc.pl

Jednym z największych problemów współczesnej hodowli bydła są choroby cieląt, wśród nich znaczną rolę odgrywają biegunki [1]. Szacuje się, że są one odpowiedzialne za około 40% upadków cieląt, powodują także zwiększone ryzyko innych zachorowań oraz brakowania przyszłej krowy. W ochronie cieląt przed biegunkami istotną rolę odgrywa prawidłowe odpojenie siarą dobrej jakości, jednak często w fermach brakuje dostatecznej ilości takiej siary. W takich sytuacjach pomocne może być stosowanie preparatów zawierających przeciwciała żółtka jaja (IgY) chroniące cielęta przed najczęstszymi patogenami powodującymi biegunki – bakteriami *E. coli*, rota- i koronawirusami.

**Cel badań:** Kontrola skuteczności suszonej rozpyłowo plazmy żółtek jaj od kur immunizowanych komercyjną szczepionką bydłęcymi przeciwko *E. coli*, korona- i rotawirusom.

**Materiał i metody:** Do doświadczenia zakwalifikowano 56 cieląt przeniesionych do cielętnika, preparat podawano przez pierwsze 14 dni. Cielęta podzielono na 3 grupy:

Grupa 1 – dodatek preparatu IgY/ żółtka tylko paszy treściwej (2 g IgY/kg, *ad libitum*)

Grupa 2 – dodatek preparatu IgY/ żółtka do paszy treściwej (2 g IgY/kg *ad libitum*) i preparatu mlekozastępczego 2 razy dziennie, rano i wieczorem (4 g IgY/2 l)

Grupa 3 – dodatek preparatu IgY/ żółtka tylko do preparatu mlekozastępczego dwa razy dziennie, rano i wieczorem (4 g IgY/2 l)

Cielęta ważono w pierwszy dzień podawania preparatu i w ostatnim 14. dniu doświadczenia.

Krew pobierano 3-krotnie: pierwszego dnia, po tygodniu oraz w ostatnim dniu doświadczenia.

W zebranych próbkach krwi oznaczono: wartość hematokrytu, koncentrację białek ostrej fazy (fibrinogen, haptoglobina, SAA), białko całkowite surowicy i jego frakcje (albuminy, alfa, beta, gamaglobuliny), stężenie IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> i IgM.

**Wyniki i omówienie:** Średnie przyrosty masy ciała cieląt były najwyższe w grupie N (586 g/dzień), nieco niższe u cieląt kontrolnych (493 g/dzień), a najniższe u cieląt otrzymujących dodatek IgY od kur immunizowanych (314 g/dzień).

U cieląt otrzymujących paszę z dodatkiem IgY od kur immunizowanych w okresie pierwszych dwóch tygodni pobytu w cielętniku nastąpił wzrost stężenia albumin, a stężenie gammaglobulin utrzymywało się na stabilnym poziomie. W tym samym czasie u cieląt kontrolnych doszło do nieznacznego spadku albumin, a jednocześnie do wzrostu stężenia gammaglobulin, w tym zaobserwowano silny wzrost IgG<sub>2</sub>. Z kolei u cieląt otrzymujących IgY od kur nieimmunizowanych wartości tych białek ulegały niewielkim wahaniom. Stężenie fibrinogenu i haptoglobiny było wyższe w grupie cieląt kontrolnych, zaś w grupach chronionych dodatkiem IgY wykazywało nieznaczące wahania przez cały okres obserwacji. Uzyskane wyniki wskazują na ochronny wpływ dodatku IgY od kur immunizowanych zmniejszający ich reakcję na czynniki infekcyjne.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Svensson C., Lundborg K., Emanuelson U., Olsson S.O., 2003. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf-level risk factors for infectious diseases. *Prev. Vet. Med.*, 58, 179–197.

Badania wykonano dzięki projektowi Nr POIG.01.03.01-00-133/08 – „Innowacyjne technologie produkcji bio-preparatów na bazie nowej generacji jaj (OVOCURA)”, współfinansowanemu przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, 2007–2013.





## WYMIANA KOMÓREK NABŁONKA W JELICIE CIENKIM PROSIĄT WE WCZESNYM OKRESIE POSTNATALNYM

### THE EPITHELIAL CELLS TURNOVER IN THE SMALL INTESTINE OF NEWBORN PIGLETS

Tomasz Skrzypek<sup>1</sup>, Jose L. Valverde Piedra<sup>2</sup>, HENRYK Skrzypek<sup>3</sup>, Michał M. Godlewski<sup>4</sup>,  
Romuald Zabielski<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Pracownia Mikroskopii Elektronowej

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt

<sup>3</sup>Katolicki Uniwersytet Lubelski, Katedra Zoologii i Ekologii Bezkręgowców

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Katedra Nauk Fizjologicznych

e-mail: tskrzypek@kul.pl

Dotychczasowa wiedza o wymianie komórek nabłonka w jelicie cienkim pochodzi głównie z obserwacji prowadzonych na dorosłych zwierzętach i ludziach. W jelicie cienkim nowo narodzonych prosiąt wymiana komórek nabłonka jest ściśle powiązana z rozwojem jelita w okresie postnatalnym i przebiega zgoła odmiennie niż u osobników dorosłych.

**Cel badań:** Z zastosowaniem skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) i konfokalnej – wskazanie cech charakterystycznych dla wymiany komórek nabłonka jelita cienkiego u noworodków prosiąt we wczesnym okresie postnatalnym.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 20 nowo narodzonych prosiątach, uśpionych przez przedawkowanie barbituranów w 1., 3., 7., 14. i 21. dniu życia. Próbkę do badań mikroskopowych pobierano z poszczególnych odcinków jelita cienkiego. Po preparacji [1] fragmenty jelita analizowano w mikroskopie elektronowym skaningowym i konfokalnym. Komórki apoptotyczne identyfikowano na podstawie ekspresji aktywnej kaspazy-3, a w SEM lokalizowano je dzięki charakterystycznemu skróceniu lub braku mikrokosmków na wierzchołkowej powierzchni błony komórkowej [2].

**Wyniki i omówienie:** U nowo narodzonych prosiąt komórki apoptotyczne widoczne były na całej długości kosmka oraz w kryptach jelitowych, podczas gdy u dorosłych świń komórki apoptotyczne lokalizowano tylko w strefie wypadania. Intensywność apoptozy była większa u noworodków niż osobników dorosłych. Wymiana komórek nabłonka u noworodków prowadzi do zastąpienia enterocytów o fenotypie płodowym, co odbywa się w pierwszych 2–3 tygodniach życia prosiąt, populacją enterocytów tzw. dorosłych. Cechą charakterystyczną towarzyszącą wymianie komórek nabłonka jelitowego u noworodków jest obecność licznych pakietów obejmujących od 3 do 8 ginących jednocześnie enterocytów. Pakiety obumierających komórek można odróżnić w SEM od pozostałych komórek nabłonka dzięki charakterystycznemu zapadnięciu bądź wysunięciu komórek o 1–2  $\mu\text{m}$ . Badania dzięki o technice SEM i mikroskopii konfokalnej ujawniły, że komórki w pakietach znajdują się w różnych stadiach apoptozy, a niektóre z nich podlegają procesowi autofagii. Zaobserwowano dwa równoległe przebiegające sposoby eliminacji komórek apoptotycznych u nowo narodzonych prosiąt – złuszczenie komórek nabłonka do światła jelita oraz wnikanie komórek apoptotycznych pod nabłonek, gdzie komórki te są fagocytowane przez makrofagi. Odnotowano też, że znaczna część komórek apoptotycznych nabłonka ulega złuszczeniu w całości, a tylko część ginących enterocytów ulega fragmentacji, tworząc ciała apoptotyczne. Apoptozę komórkową na całej długości kosmka obserwuje się przez pierwsze 2 tygodnie życia postnatalnego. Strefy wypadania na szczytach kosmków jelitowych u noworodków prosiąt uwidaczniają się po 3. dniu życia. W podsumowaniu: fizjologiczna wymiana komórek nabłonka u dorosłych świń ma na celu zastąpienie zużytych komórek nabłonkowych przez nowe komórki o podobnym fenotypie. U noworodków proces ten ma inną lokalizację i ma na celu wymianę komórek o fenotypie płodowym na komórki o cechach dorosłego enterocyta, co jest ściśle powiązane z procesami wzrostu i dojrzewania nabłonka jelitowego i indukcją funkcji trawiennych jelita.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Skrzypek i wsp., 2005. Light and scanning microscopy evaluation of the postnatal small intestinal mucosa development in pigs. *J. Physiol. Pharmacol.*, 56 (S3).
- [2] Godlewski i wsp., 2005. Into the unknown – the death pathways in the neonatal gut epithelium. *J. Physiol. Pharmacol.*, 56 (S3).



## ROZWÓJ KĘPEK PEYERA W JELICIE KRĘTYM NOWO NARODZONYCH PROSIĄT. BADANIA Z ZASTOSOWANIEM SKANINGOWEJ MIKROSKOPII ELEKTRONOWEJ

### THE DEVELOPMENT OF PAYER PATCHES IN THE ILEUM OF NEWBORN PIGLETS. A SEM STUDY

Tomasz Skrzypek<sup>1</sup>, Jose L. Valverde Piedra<sup>2</sup>, Henryk Skrzypek<sup>3</sup>, Romuald Zabielski<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Pracownia Mikroskopii Elektronowej

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt

<sup>3</sup>Katolicki Uniwersytet Lubelski, Katedra Zoologii i Ekologii Bezkręgowców

<sup>4</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Katedra Nauk Fizjologicznych

Kępki Peyera, stanowiące część układu odpornościowego przewodu pokarmowego, są wyraźnie widoczne w jelicie krętym u tygodniowych prosiąt. Pokrywają je enterocyty, nieliczne komórki śluzowe oraz komórki M, zdolne do inicjacji odpowiedzi immunologicznej. Komórki te są zdolne do wiązania, transportu i prezentacji antygeny podnabłonkowym komórkom limfoidalnym. Dynamikę rozwoju kępek Peyera w jelicie krętym nowo narodzonych prosiąt obserwowano przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 10 nowo narodzonych prosiąt, uspijonych przez przedawkowanie barbituranów w 1., 3., 7., 14. i 21. dniu życia. Próbkę do badań mikroskopowych pobierano z poszczególnych odcinków jelita cienkiego. Po spreparowaniu [1] fragmenty jelita analizowano w skaningowym mikroskopie elektronowym.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach nad rozwojem błony śluzowej jelita krętego grudki chłonne obserwowano w 7. dniu życia prosiąt. Szacunkowy udział kępek Peyera w powierzchni nabłonka wynosił 36% powierzchni jelita krętego. Zarówno w 1., jak i w 3. dniu życia prosiąt nie obserwowano kępek, co mogło być związane z silnym zagęszczeniem kosmków w nabłonku jelita, odpowiednio 170/mm<sup>2</sup> i 75/mm<sup>2</sup> w 1. i 3. dniu życia, w porównaniu z 54/mm<sup>2</sup> w 7. dniu życia. Ponadto kształt kosmków w 1. i 3. dniu urodzenia; liściasty i spłaszczony, mógł maskować obecność grudek chłonnych. Zmiana kształtu kosmków w 7. dniu życia na palczasty, ułatwia obserwację grudek chłonnych. W 14. i 21. dniu życia udział kępek Peyera w powierzchni nabłonka zmniejszał się i stanowił odpowiednio 28 i 16%. Kępki Peyera były wyraźnie niższe od otaczających je kosmków jelitowych, a komórki nabłonkowe pokrywające kępki charakteryzowały się krótszymi mikrokosmkami niż enterocyty obecne na kosmkach. W nabłonku kępek obserwowano liczne komórki M. Komórki M u nowo narodzonych prosiąt charakteryzują się nieregularnym kształtem i okryte są rzadkimi mikrokosmkami, a ich powierzchnia wierzchołkowa jest znacznie mniejsza niż pozostałych komórek nabłonka. Komórki M obserwowano w różnych stadiach pobudzenia. Charakterystycznie rozpostarte mikrofałdy obserwowano w komórkach wchodzących w interakcję z antygenami bakteryjnymi. Obserwowano wyraźne powinowactwo bakterii do komórek M nowo narodzonych zdrowych prosiąt, utrzymywanych w standardowych warunkach fermowych (do enterocytów kępek adherowały zasadniczo nieliczne, pojedyncze bakterie). U badanych zwierząt nie stwierdzono biegunek ani innych objawów chorobowych, co wskazuje, że obserwowana spontaniczna aktywacja komórek M antygenami flory jelitowej może stanowić istotny czynnik w prawidłowym rozwoju kompetencji układu immunologicznego noworodków. Przeniesienie i prezentacja antygeny przez komórki M prowadzi do aktywacji limfocytów T i B i stymuluje produkcję IgA.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Skrzypek T., Valverde Piedra J.L., Skrzypek H., Kazimierczak W., Szymańczyk S., Pawłowska M., Zabielski R., 2007. Intestinal villi structure during the development of pig and wild boar crossbreed neonates. *Livestock Science*, (109), 38–41.



## POSOCZNICA NA TLE ZAKAŻENIA *HISTOPHILUS SOMNI* U DWUTYGODNIOWEGO CIELEŃCIA, JAŁÓWKI, RASY JERSEY

### SEPTICAEMIA CAUSED BY *HISTOPHILUS SOMNI* IN TWO WEEK OLD FEMALE JERSEY CALF

Zenon Sołtysiak<sup>1</sup>, Paulina Jawor<sup>2</sup>, Tadeusz Stefaniak<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów; Zakład Parazytologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: zenon.soltysiak@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

**Wstęp:** Posocznica jest systemową chorobą związaną z obecnością drobnoustrojów we krwi. Septycznej bakteremii towarzyszą gorączka, zaburzenia oddychania i wybroczynowość. U bydła warunkowo chorobotwórcza pałeczka *Histophilus somni* może wywołać nadostry przebieg choroby z posocznicą. Drobnoustrój ten ponadto wywołuje zapalenie płuc, zatorowo-zakrzepowe zapalenie opon i mózgu, zmiany patologiczne układu rozrodczego u samic i poronienia. Przypadki nie leczone prowadzą zwykle do śródnaczyniowego wykrzepiania, obrzęku płuc i wstrząsu (shock), co zwykle kończy się śmiercią zwierzęcia. Drobnoustroje zostają przetransportowane do zatok śledziony, gdzie ulegają fagocytozie przez granulocyty i monocyty. Zapalenie śledziony (*splenitis*) powstające w przebiegu posocznicy powoduje przekrwienie, destrukcję miazgi białej i w konsekwencji jej powiększenie (*splenomegalia*). Pośmiertnie obserwuje się zawały krwotoczne w mózgu i rdzeniu kręgowym, ogniska zawałowe w mięśniu sercowym i mięśniach szkieletowych, włóknikowo-ropne zapalenie błon surowiczych i wielostawowe zapalenie.

**Cel pracy:** Wykazanie wczesnych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego (OUN) powstałych w przebiegu posocznicy u 2-tygodniowego cielęcia, jałówki rasy jersey w okresie występowania zapaleń płuc na tle *Histophilus somni* u cieląt.

**Materiał i metody:** Do badań bakteriologicznych pobrano wycinki narządów od pięciu cieląt padłych z powodu zapalenia płuc. Do badań neuropatologicznych pobrano mózgowie jednego cielęcia, jałówki w wieku 2 tygodni, które padło nagle z objawami *opisthonus*. Mózgowie utrwalano w 10% obojętnej formalinie i wycięto poprzeczne plastry tkanki mózgowia według schematu. Skrawki mózgowia grubości 4–7µm barwiono hematoksyliną i eozyną (H-E).

**Wyniki i omówienie:** Od 5 cieląt z zapaleniem płuc wyizolowano w czystej kulturze *H. somni*. Mózg 2-tygodniowego cielęcia, jałówki był obrzękły, miał spłaszczony zakręty kory mózgu z widocznymi drobnymi, korowymi wybroczynami. Histologicznie stwierdzono włóknikowo-ropne zapalenie opony miękkiej (*leptomeningitis*), włóknikowate zapalenie naczyń krwionośnych z zakrzepami w naczyniach oponowych i istocie szarej oraz białej mózgu (*degeneratio fibrinoides*). W świetle naczyń obserwowano liczne kolonie bakteryjne (biofilm). Włóknikowatej martwicy ściany naczyń krwionośnych towarzyszyła intensywna, miejscowa odpowiedź neutrofilów. Czasem kolonie przenikały z naczyń krwionośnych do tkanek, w których występowały ogniska martwicy krwotocznej (zawał krwotoczny).



## HORMONALNA AKTYWNOŚĆ BRĄZOWEJ TKANKI TŁUSZCZOWEJ U NOWO NARODZONYCH JAGNIĄT

### HORMONAL ACTIVITY OF BROWN ADIPOSE TISSUE IN NEWBORN LAMBS

Danuta Wrońska, Małgorzata Błachuta

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt, Al. Mickiewicza 24/28, 30-349 Kraków, rzwronsk@cyf-kr.edu.pl

Utrzymanie stałej temperatury ciała nowo narodzonego osobnika wiąże się z koniecznością wytwarzania ciepła. U jagniąt dominuje termogeneza bezdrzeniowa, warunkowana aktywacją brązowej tkanki tłuszczowej (BAT) zgromadzonej w życiu płodowym. Już od momentu urodzenia wytwarzanie energii cieplnej następuje dzięki uruchomieniu lipolizy BAT [1]. Aktywacja tego procesu sterowana jest głównie noradrenaliną (NA) ale wykazano także, że trójiodotyronina ( $T_3$ ) jest niezbędnym czynnikiem uzupełniającym jej rolę [2].

**Cel badań:** Próba porównania mechanizmów adaptacyjnych, w kontekście utrzymania normotermii, u jagniąt jedynaków i bliźniaków w pierwszej dobie ich życia przez pomiar stężenia amin katecholowych (NA, A) oraz hormonów tarczycowych ( $T_4$ ,  $T_3$  oraz  $rT_3$ ) w BAT.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiła tkanka BAT pozyskana od jagniąt jedynaków i bliźniaków (I – urodzony jako pierwszy) bezpośrednio po urodzeniu oraz po 6 godzinach życia. Określono temperaturę wewnętrzną i masę BAT u wszystkich badanych jagniąt oraz stężenie NA i A, oraz wszystkich trzech hormonów tarczycowych ( $T_4$ ,  $T_3$  oraz  $rT_3$ ) metodą radioimmunologiczną (RIA) przy użyciu gotowych zestawów.

**Wyniki i omówienie:** Największą ilość BAT zarówno bezpośrednio po urodzeniu, jak i po 6 godzinach życia stwierdzono u jagniąt jedynaków, mniejsze u bliźniaków I, a najmniejsze u bliźniaków II. Wykazano udział NA i A w regulacji czynności BAT u nowo narodzonych jagniąt, szczególnie bezpośrednio po urodzeniu; odnotowane wyższe stężenie amin katecholowych w BAT bliźniaków wskazuje na możliwość sterowania przez te hormony aktywnością termogeniczną tej tkanki. W BAT nowo narodzonych jagniąt wykazano równoległe zmiany stężenia  $T_4$  i  $T_3$  oraz amin katecholowych. Niespodziewanie duże stężenie  $rT_3$  w tej tkance u jagniąt jedynaków oraz bliźniaków I i II wskazuje na możliwość spowalniania lipolizy w BAT jagniąt w pierwszych godzinach życia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Clarke L., Buss D.S., Juniper D.T., Lomax M.A., Symonds M.E. 1997. Adipose tissue development during early postnatal life in ewe-reared lambs. *Exp. Physiol.*, 82, 1015–1027.
- [2] Bianco A.C., Silva J.E. 1987. Intercellular conversion of thyroxine to triiodothyronine is required for the optimal thermogenesis function of brown adipose tissue. *J. Clin. Invest.*, 79, 295–300.
- [3] de Jesus L., Carvalho S.D., Ribeiro M.O., Schneider M., Kim S.W., Harney J.W., Larsen P.R., Bianco A.C. 2001. The type 2 iodothyronine deiodinase is essential for adaptive thermogenesis in brown adipose tissue. *J. Clin. Invest.*, 108, 1379–1385.
- [4] Symonds M.E., Bryant M.J., Clarke L., Darby C.J., Lomax M.A. 1992. Effect of maternal cold exposure on brown adipose tissue and thermogenesis in the neonatal lamb. *J. Physiol.*, 455, 487–502.



## ZABURZENIA HEMOSTAZY W NIEDOBORZE SELENU U CIELĄT

### HEMOSTASIS DISORDERS IN SELENIUM DEFICIENCY IN CALVES

Katarzyna Żarczyńska, Przemysław Sobiech, Justyna Radwińska, Anita Procajło,  
Wojciech Rękawek

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-957.Olsztyn, e-mail: katarzyna.zarczynska@uwm.edu.pl

Selen jest biopierwiastkiem odgrywającym istotną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu ustroju. Stanowi część składową enzymów i innych białek o ważnej funkcji biologicznej. Selen bierze udział w procesach oksydoredukcyjnych, wykazuje działanie antyproliferacyjne i przeciwzapalne oraz stymuluje układ odpornościowy. Jednym z podstawowych zaburzeń powodowanych przez niedobór selenu jest pokarmowa dystrofia mięśni (PDM).

**Cel badań:** Określenie zmian układu krzepnięcia u cieląt z niedoborem selenu.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 40 cielętach rasy h-f. Cielęta podzielono na dwie grupy – cielęta zdrowe i cielęta wykazujące objawy pokarmowej dystrofii mięśni. Grupa doświadczalna (cielęta wykazujące objawy PDM) i grupa kontrolna (cielęta zdrowe) liczyły po 20 sztuk. Cielętom z grupy kontrolnej w 2. dniu życia została podana jednorazowa iniekcja domięśniowa preparatu zawierającego witaminę E i selen w dawce 8 ml/cielę w składzie octan tokoferolu – 50 mg, selenian sodu – 0,5 mg, *solvens ad* – 1 ml. Od wszystkich cieląt została pobrana w odstępach 7-dniowych (począwszy od 5. dnia życia) trzykrotnie krew do badań koagulologicznych. Badania wskaźników układu krzepnięcia wykonano aparatem Coag Chrom 3003 firmy Bio-Ksel, wykorzystując gotowe zestawy odczynników tego samego producenta. W osoczu cieląt zdrowych i chorych oznaczono wskaźniki układu krzepnięcia: PT, APTT, TT, fibrynogen, D-dimery, AT III oraz PLT.

**Wyniki i omówienie:** Analizując wyniki badań koagulologicznych cieląt z niedoborem selenu oraz cieląt zdrowych, nie zaobserwowano istotnych zmian we wskaźnikach układu krzepnięcia. Statystycznie istotnie zmniejszyła się średnia liczba płytek u cieląt z grupy badanej i wynosiła w I, II i III badaniu odpowiednio 524,35, 895,05 i 713,85 x 10<sup>9</sup>/l, natomiast w grupie kontrolnej odpowiednio 684,70, 1155,40 i 1133,10 x 10<sup>9</sup>/l. Obniżenie liczby płytek krwi może być spowodowane jednym z trzech podstawowych mechanizmów: spadkiem lub nieefektywną produkcją płytek krwi, wzmożoną agregacją albo skróconym okresem trwania płytek. Trombocytopenia u cieląt z niedoborem selenu może wynikać z istniejącej zależności między stężeniem homocysteiny (Hcys) we krwi a nasiloną tendencją płytek krwi do agregowania [Undas i in. 2007]. Zarówno Hcys, jak i jej tiolakton modyfikują białka płytek krwi; zmieniają stężenie grup karbonylowych, 3-nitrotyrozyny i grup tiolowych. Białkami zaangażowanymi w przekazywanie sygnału indukowanego w płytkach krwi przez Hcys są kinazy [Src, p72syk, p38MAPK] oraz fosfolipaza PLC2- $\gamma$ , a także fosfolipaza A<sub>2</sub>, regulująca syntezę kwasu arachidonowego, metabolizowanego następnie do tromboksanu A<sub>2</sub>. W wyniku zwiększenia syntezy tromboksanu A<sub>2</sub> oraz zaburzenia wytwarzania substancji antyagregacyjnych, takich jak EDRF i PGI<sub>2</sub>, następuje nasiloną agregacja i aktywacja krwinek płytkowych. Potwierdzono to w badaniach, w których zwiększenie stężenia Hcys w medium komórkowym powodowało nasiloną adhezję płytek do komórek śródbłonna (Lewandowski 1998). Uzyskane wyniki badań własnych mogą wskazywać na korelację pomiędzy zmniejszonym stężeniem selenu u cieląt grupy doświadczalnej a zwiększoną tendencją do agregacji płytek. Należy jednak podkreślić, że w przebiegu pokarmowej dystrofii mięśni cieląt nie zaobserwowano innych istotnych zaburzeń hemostazy.



**SEKCJA  
FIZJOLOGII I PATOLOGII  
PRZEŻUWACZY**





# LISTERIOZA U PRZEŻUWACZY

## LISTERIOSIS IN CATTLE, SHEEP AND GOATS

Walter Baumgartner

Uniwersytet Weterynaryjny w Wiedniu, Klinika Przeżuwaczy, e-mail: walter.baumgartner@vetmeduni.ac.at

### Wprowadzenie, występowanie

Listerioza jest zakaźną chorobą wielonarządową, pojawiającą się najczęściej sezonowo w okresie skarmiania zwierząt kiszonką (od października do maja). Poważny problem stanowi jej zoonotyczny charakter. Do zakażenia ludzi przeważnie dochodzi przez zanieczyszczone warzywa, rzadziej przez zwierzętami.

### Etiologia, patogenezą

*Listeria monocytogenes* jest mikroorganizmem ubikwitalnym, występującym w glebie oraz środowisku ferm. Częstym źródłem zakażenia dla zwierząt jest źle przygotowana i przechowywana kiszonka o pH powyżej 5.0–5.5. Dodatkowo do masowego wydalania bakterii wraz z zakażonym materiałem dochodzi podczas poronienia. Listerie wykrywane są również w mleku, odchodach i moczu.

### Objawy kliniczne

Zapalenie opon mózgowych i mózgu: ta forma występuje częściej u bydła i owiec, rzadziej u kóz; często ponad 10% dorosłych zwierząt w stadzie jest zakażonych; typowe objawy to: gorączka, izolacja od stada, głowa opuszczona na wyprostowanej mocno szyi, opieranie się o różne przedmioty bez napierania głową, przechylona głowa, przewracanie się na zakażoną stronę, powolne przeżuwanie, wypadanie języka, problemy w polykaniu, porażenie krtani, opadnięte uszy, wyniszczenie, śmierć następuje w ciągu 8–10 dni.

Forma rozrodcza: poronienie w trzecim trymestrze ciąży (u bydła w 6-9 miesiącu, u owiec i kóz w 2–5 miesiącu).

Forma septyczna: dotyczy głównie noworodków.

Zapalenie rogówki i spojówki: zakażenie dotyczy jednego lub obu oczu, silne łzawienie, zaciśnięcie powiek.

Forma wymieniowa: do zakażenia dochodzi drogą wstępującą, często źródłem jest kał. Zakażenia może mieć charakter śródmiąższowy lub przewlekły nieżytowy w obrębie jednej ćwiartki. Wyczuwalne mogą być guzki i obrzęki w dolnej części ćwiartki. Dochodzi do wzrostu liczby komórek somatycznych.

Zapalenie jelit: dotyczy cieląt i jagniąt odstawionych, dochodzi do szybkiej utraty masy ciała oraz śmierci.

### Diagnostyka

Wywiad, objawy kliniczne, badanie sekcyjne, histopatologiczne, badanie płynu mózgowo-rdzeniowego, serologia (tylko bardzo wysokie miana).

### Leczenie

We wczesnym stadium chlortetracyklina (10–2 mg/ kg m.c., i.v. 2 razy dziennie przez 5 dni), ampicylina lub penicylina (40 000 j.m./ kg m.c. i.m. raz dziennie przez 7–10 dni), deksametazon (1 mg/ kg m.c., i.v. jednorazowo). Dodatkowo jak najszybciej należy usunąć źródło zakażenia.

### Zapobieganie, zwalczanie

Czyszczenie i dezynfekcja silosów, uszkodzeń mechanicznych silosów, utrzymywanie kiszonki w warunkach beztlenowych i o pH poniżej 5, unikanie zanieczyszczenia kałem stołów paszowych, żywienie kiszonką wysokiej jakości, unikanie sytuacji stresowych u zwierząt.

Jak dotąd, na rynku brak modyfikowanej żywej szczepionki; dostępne, bazujące na martwych patogenach są mało efektywne ze względu na możliwość przeżycia *Listeri* wewnątrz komórek żywiciela.



## ENDOMETRITIS U KRÓW MLECZNYCH

### ENDOMETRITIS IN MILK COWS

**Tomasz Janowski**

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn, e-mail: jantom@uwm.edu.pl.*

Celem tego referatu jest dokonanie oceny nowych poglądów dotyczących etiopatogenezy, klinicznych postaci oraz diagnozowania i leczenia endometritis u krów mlecznych, ze zwróceniem szczególnej uwagi na aspekty praktyczne.

Endometritis, ciągle istotne zaburzenie płodności krów, jest aktualnie klasyfikowane jako kilka podstawowych form klinicznych: poporodowe metritis, kliniczne endometritis, ropomacicze i subkliniczne endometritis. Klasyfikacja ta skutkuje również nowymi koncepcjami leczenia, które powinny być zindywidualizowane i dopasowane do formy schorzenia. Obok leczenia antybiotykami, głównie w postaci wlewów domacicznych, obecnie preferowana jest terapia parenteralna PGF<sub>2α</sub>, a także tzw. opcja nie leczyć. Jednakże te nowe koncepcje leczenia wydają się być kontrowersyjne. Dowiedziono przy tym jednak silnej tendencji macicy do samowyleczeń, co dotyczy zwłaszcza przypadków o lekkim przebiegu klinicznym.

Nowością są także próby ujednoczenia oceny przypadków endometritis, bazujące na wybranych cechach klinicznych. Jednakże nie w pełni sprawdzają się one w warunkach praktyki terenowej. Obecnie sugeruje się ocenę endometritis na podstawie klinicznej oceny wydzieliny/wypływu, ultrasonograficznego pomiaru szyjki macicznej oraz oceny cytologicznej wymazu śluzu z rogów macicy. Trudne do oceny jest także zjawisko cytologicznego/podklinicznego endometritis, uznawane ostatnio za istotną przyczynę powtarzania rui. Pogarsza ono znacznie płodność krów, przy czym nie istnieje dotychczas żadna skuteczna metoda leczenia tego schorzenia. Wydaje się, że jest ono do przewyciężenia głównie poprzez późniejsze podejmowanie krycia krów. Inne nowe problemy związane z endometritis u krów to niezależność stanów zapalnych szyjki macicznej od stanu rogów. Istnieją sugestie, że takich przypadków jest wiele, przy czym nie wymagają one leczenia. Podnoszony jest również ostatnio problem stanów zwyrodnieniowych endometrium (endometritis, adenomyosis i inne). Nie jest dotychczas jasna ich etiopatogeneza, a także ewentualny związek ze stanami zapalnymi lub metodami ich leczenia.

Podsumowując, aktualnie przypadki endometritis są klasyfikowane według nowego podziału oraz powstają odmienne niż dotychczas koncepcje diagnozowania i leczenia tego schorzenia. Jednakże nie wszystkie z nich sprawdzają się w warunkach praktyki terenowej.



## ŻYWIENIE KRÓW WYSOKOPRODUKCYJNYCH FEEDING OF HIGH YIELDING DAIRY COWS

Zygmunt Maciej Kowalski<sup>1</sup>, Jan Twardoń<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Al. Mickiewicza 2/28, 30-059 Kraków, e-mail: rzkowals@cyfronet.krakow.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław

Celem pracy przeglądowej jest przedstawienie na tle najnowszej literatury przedmiotu najważniejszych problemów okresu okołoporodowego u krów mlecznych, które związane są z nieprawidłowym żywieniem (błędami żywieniowymi). W pracy dokonano przeglądu najważniejszych zmian metabolicznych, w tym hormonalnych, związanych z końcem okresu ciąży, porodem oraz początkiem laktacji. Na tym tle omówiono zasady żywienia krów w okresie przejściowym. Omówiono znaczenie poszczególnych składników energetycznych oraz białka, witamin i składników mineralnych. Przedstawiono najbardziej popularne modele żywieniowego przygotowania krów do laktacji, tj. system tradycyjny z podziałem na żywienie w okresie zasuszenia i w okresie przejściowym przed porodem, system jednej dawki pokarmowej oraz system dawki z dużym udziałem słomy.

Zwrócono uwagę na uwarunkowania żywieniowe podstawowych zaburzeń metabolicznych, tj. ketozy, stłuszczenia wątroby, przemieszczenia trawieńca, zalegania poporodowego, a także zatrzymania łożyska oraz chorób infekcyjnych, tj. mastitis i endometritis. Podkreślono negatywne znaczenie stresu oksydacyjnego w okresie przejściowym dla zdrowia krów oraz sposoby ograniczania tego wpływu.

Szczególną uwagę zwrócono na organizację żywienia krów w okresie okołoporodowym, w tym na systemy i sposoby zadawania pasz oraz grupowania krów. W tym kontekście omówiono problematykę właściwej struktury fizycznej pasz (prewencja subklinicznej kwasicy żwacza) oraz problem wybierania pasz z TMR-u (sortowanie pasz). Przedstawiono wyniki badań własnych. Omówiono również zależność pomiędzy dobrostanem krów a ich żywieniem, szerzej dyskutując problematykę hierarchii w stadzie (krowy dominujące i zdominowane), dostęp do stołu paszowego, komfort legowisk itp.

Na tle badań własnych prowadzonych na Uniwersytecie Rolniczym w Krakowie oraz na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu przedstawiono najważniejsze dodatki paszowe stosowane w żywieniu krów wysoko produkcyjnych, w okresie przejściowym. Zwrócono uwagę na korzyści z ich stosowania oraz uzasadnienie ekonomiczne.





## TERAPIA NAWADNIAJĄCA W PRZEBIEGU BIEGUNEK U CIELĄT

### FLUID THERAPY IN DIARRHOEA OF CALVES

Przemysław Sobiech, Katarzyna Żarczyńska, Wojciech Rękawek, Artur Stopyra

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny-Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn, e-mail: psobiech@uwm.edu.pl

Schorzenia biegunkowe i oddechowe stanowią ok. 80% przypadków chorobowych cieląt są główną przyczyną strat ekonomicznych. Z objawami zespołu biegunkowego chorują najczęściej cielęta w wieku do 6 tygodni. Wyróżnia się trzy okresy zachorowań: pourodzeniowy (1.–4. dzień), odsadzenia i przejścia do cielętnika. Do przyczyn wywołujących biegunkę zalicza się czynniki: dietetyczne, bakteryjne, grzybicze, wirusowe, toksyczne, pasożytnicze, alergiczne i stresowe.

Głównym problemem zdrowotnym w przypadku biegunki cieląt, jak i u innych zwierząt, jest odwodnienie spowodowane zwiększoną utratą płynów z kałem i ograniczeniem ich podawania z mlekiem. Odwodnieniu towarzyszy spadek objętości surowicy oraz płynów pozakomórkowych, tym samym dochodzi do zmniejszenia objętości wyrzutowej serca, słabszego utlenowania tkanek i szoku hipowolemicznego. Długotrwała i uporczywa biegunka może prowadzić do zaburzeń homeostazy kończących się śmiercią. Innym zaburzeniem homeostazy organizmu spowodowanym długotrwałą biegunką jest kwasica metaboliczna powstająca głównie w wyniku jelitowej utraty węglowodanów i żołądkowej lub jelitowej fermentacji laktozy i glukozy do krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych i mleczanów.

Charakter polietiologiczny schorzeń cieląt z objawami biegunki wymusza zastosowanie kompleksowego leczenia obejmującego:

- uzupełnienie niedoboru płynów ustrojowych,
- skorygowanie zaburzeń elektrolitowych i kwasowo-zasadowych,
- zapewnienie dowozu energii,
- ułatwienie procesu regeneracji uszkodzonego nabłonka,
- w przypadku zakażeń bakteryjnych – zmniejszenie ilości bakterii w przednich odcinkach jelit oraz ich eliminacja z krwi.

Jedną z najważniejszych metod leczenia w stanach biegunkowych jest nawadnianie. Można je wykonywać doustnie lub parenteralnie (dożylnie, dootrzewnowo). Wskazaniem do podawania płynów dożylnych jest ponad 6-procentowy stopień odwodnienia z jednoczesnym zmniejszeniem lub brakiem łaknienia. W przypadku gdy zachowany jest odruch ssania, zalecane są płyny doustne.

Optymalny płyn do nawadniania doustnego powinien być osmolarny, zawierać sód, być źródłem substancji alkalizujących i energetycznych oraz zawierać dodatek substancji stymulujących odnowę nabłonka jelitowego – np. glutaminianów. Zawartość sodu w płynie powinna mieścić się w granicach 90–130 mmol/l, a w celu dostarczenia energii i zwiększenia absorpcji wody płyny doustne powinny zawierać glukozę, octany lub propioniany.

Leczenie cieląt o dużym stopniu odwodnienia wymaga dożylnego podawania znacznych objętości roztworów izotonicznych, np.: 1.3% roztwór  $\text{NaHCO}_3$  czy płynu Ringera z mleczanami lub octanami. Konieczną do podania ilość płynu można obliczyć ze wzoru:

ilość płynu w litrach = masa ciała zdrowego zwierzęcia w kg x % odwodnienia/100

Np.: cielę o masie ciała 30 kg, które straciło 6% płynów –  $30 \times 6/100 = 1.8$  l izotonicznego płynu do uzupełnienia tego niedoboru.

Maksymalna ilość podanego płynu izotonicznego nie może przekraczać 80 ml/kg mc/godzinę. Cielętom z biegunką należy zapewnić ilość płynu potrzebną do funkcjonowania organizmu – ok. 60–80 ml/kg mc/24 h i jednocześnie uzupełnić straty wynikające w trakcie biegunki – 20–60 ml/kg mc/24 h. W przypadku bardzo ciężkiej biegunki powodującej śpiączkę zaleca się szybkie nawodnienie poprzez podanie hipertonicznego roztworu soli: 4–5 ml/kg mc przez 4–5 min. 7.2% roztworu NaCl.



## WSPÓŁCZESNE POGLĄDY NA TEMAT LEKARSKIEGO NADZORU NAD PŁODNOŚCIĄ W STADACH BYDŁA MLECZNEGO

### ACTUAL VIEWS OF VETERINARIAN MANAGEMENT OF DAIRY COWS FERTILITY

Jan Twardoń, Grzegorz Jakub Dejneka, Jacek Mrowiec

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław, e-mail: [jan.twadron@up.wroc.pl](mailto:jan.twadron@up.wroc.pl)

W ostatnich latach spada wartość wskaźników płodności u bydła mlecznego, co stawia – zarówno przed hodowcami, jak i lekarzami weterynarii nowe wyzwania w utrzymaniu rentowności chowu. Współczesna, wysoko wydajna krowa mleczna charakteryzuje się wysokim tempem przemiany materii. Fakt ten skutkuje szybkim metabolizowaniem i usuwaniem z krążenia hormonów steroidowych, w tym progesteronu i estrogenów. Odzwierciedleniem tego jest m.in. krótki czas trwania objawów rujowych i występowanie cichej rui. Osobną kwestię stanowi utrzymanie optymalnego czasu przeprowadzenia inseminacji. Według licznych doniesień ok. 20% krów mlecznych w Europie jest unasiennianych w fazie lutealnej cyklu, co uniemożliwia zapłodnienie i rozwój ciąży. Należy więc z jednej strony zadbać o racjonalne żywienie, dostosowane do wymogów fizjologicznych, z drugiej zaś wdrażać nowoczesne systemy sterowania cyklem rujowym krów i jałówek. Od kilkunastu lat na całym świecie rozpowszechnia się system kontroli rui i owulacji znany pod nazwą Ovsynch. Istnieją także jego liczne modyfikacje (m.in. Pre-Synch, Co-Synch, Select-Synch), które mają również coraz częstsze zastosowanie w praktyce. Wspomniane programy (poza Select-Synch) eliminują problemy związane z wykrywaniem rui i precyzyjnie określają termin inseminacji, dzięki czemu zmniejszeniu ulegają także koszty pracy przy dozorowaniu zwierząt.

Kluczową rolę w utrzymaniu odpowiedniej płodności w stadzie odgrywa przebieg okresu poporodowego. Szczególną rolą lekarza jest baczne kontrolowanie przebiegu *puerperium* i wczesne wykrywanie oraz leczenie schorzeń macicy, które oddziałują negatywnie na wznowienie cyklicznej aktywności jajników. W opiece lekarskiej należy uwzględniać różne czynniki wpływające na bieg zdarzeń w okresie poporodowym (w tym m.in. kondycję krowy przy ocieleniu).

Niemałą grupę elementów wpływającą na rozród (głównie na przebieg ciąży) stanowią czynniki zakaźne. Zadaniem lekarza w tym zakresie jest m.in. planowanie programu szczepień, identyfikacja nosicieli i wskazywanie zwierząt do uboju.

Z ekonomicznego punktu widzenia, krowy mleczne powinny być zbadane w kierunku ciąży jak najwcześniej, aby jak najszybciej wykryć zwierzęta nieciężarne, które nie wykazują objawów rujowych. U nieciężarnych samic – w momencie wykluczenia ciąży – można zastosować programy hormonalne, np. Re-Synch, co może być korzystne do utrzymania pożądanych wskaźników rozrodu.

Ostatnim wreszcie aspektem wartym poruszenia jest holistyczne (całościowe) podejście lekarza do problemów na fermie bydła. Chodzi tu o to, żeby w analizie sytuacji uwzględniać nie tylko same zwierzęta, ale również warunki panujące w gospodarstwie oraz efektywność pracy podejmowanej przez obsługę lub właścicieli. Jeżeli nawet zaistniały problem nie jest zdefiniowany jako „czysto weterynaryjny” – to lekarz powinien przejmować na siebie rolę dietetyka, eksperta z zakresu zoohigieny czy innego specjalisty, by doprowadzić do osiągnięcia zamierzonego celu.



## ZAPALENIA GRZYBICZE I PROTOTEKOZA GRUCZOŁU MLEKOWEGO U KRÓW

### MYCOTICA AND PROTOTHECA MASTITIS IN COWS

Władysław Wawron

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: wladyslaw.wawron@up.lublin.pl

Grzybicze zapalenia wymienia pojawiają się coraz częściej w stadach krów mlecznych i są przyczyną od 2 do 13%, a niekiedy wyższego odsetka *mastitis*. Czynnikiem etiologicznym *mastitis mycotica*, w naszych warunkach klimatycznych, są głównie grzyby należące do drożdżaków. W Polsce za grzybicze zapalenia wymion odpowiedzialne są głównie drożdżaki z rodzaju *Candida*. Do zakażenia wymienia dochodzi na drodze galaktogennej. Źródłem drobnoustrojów są otoczenie zwierząt, zanieczyszczona grzybami ściółka, zakażona pasza, wadliwa wentylacja oraz brudne ściany pomieszczeń. Istotną rolę odgrywają też różne czynniki sprzyjające zakażeniom. Zapalenia grzybicze mogą występować w formie ostrej, przewlekłej lub podklinicznej. Ta ostatnia forma zapalenia występuje z reguły najczęściej. Grzybicę wymienia można podejrzewać w przypadku braku poprawy po dowymieniowym podawaniu antybiotyków. Nie obserwuje się przy tym wyraźnego pogłębienia zmian w tkance gruczołowej. Podstawą rozpoznania *mastitis mycotica* jest badanie mikologiczne.

Opinie na temat skuteczności leczenia grzybiczych zapaleń wymienia są podzielone. Z przeglądu piśmiennictwa obejmującego zastosowanie różnych związków chemicznych, antybiotyków i fungistatyków wynika, że brak jest do tej pory skutecznego leku przeznaczonego do leczenia grzybiczego zapalenia wymienia u krów. Najlepsze efekty uzyskiwano, podając dowymieniowo nystatynę lub klotrimazol. Niekiedy obserwuje się też wyleczenia spontaniczne.

Zapalenia gruczołu mlekowego wywoływane przez glony występują przeważnie sporadycznie, wykazując jednak tendencję wzrastającą. Wydaje się, że skala tego problemu może być znacznie większa, ze względu na błędy popełniane przy izolacji i identyfikacji tych drobnoustrojów. Czynnikiem etiologicznym są bezchlorofilowe glony z rodzaju *Prototheca*, takie jak: *P. zopfii*, *P. wickerhamii* oraz *P. blaschkeae*. W warunkach klimatycznych Polski najwyższa podatność na zakażenie występuje w okresie letnim przy wysokiej temperaturze i dużej wilgotności. Do zakażenia dochodzi na drodze galaktogennej. Zapalenie może przebiegać w formie przewlekłej podklinicznej i klinicznej z okresami zaostrzenia choroby i dotyczy przeważnie pojedynczych ćwiartek wymienia. Następstwem zapalenia jest znaczny spadek wydajności mlecznej, a w przypadku zapalenia przewlekłego rozrost tkanki łącznej śródmiąższowej oraz zanik pęcherzyków.

Algi cechują się bardzo wysoką opornością zarówno na antybiotyki, fungistatyki, jak też środki dezynfekcyjne. Badania własne oraz innych autorów wykazały, że glony te były wrażliwe *in vitro* na nystatynę, ketokonazol i amfoterycynę B, a także gentamycynę i kanamycynę. Jednakże dowymieniowe zastosowanie tych środków nie przynosi oczekiwanych efektów terapeutycznych. Ponieważ do tej pory nie opracowano skutecznych metod leczenia *mastitis protothecosa*, jedynym sposobem eliminacji *Prototheca sp.* ze stada jest wybrakowanie krów zakażonych.



## AKTUALNE POGLĄDY NA TEMAT ETIOLOGII I PATOGENEZY PRZEMIESZCZENIA TRAWIEŃCA U BYDŁA

### AN UPDATE ON ETIOLOGY AND PATHOGENESIS OF ABOMASAL DISPLACEMENT IN CATTLE

Thomas Wittek

Uniwersytet Weterynaryjny w Wiedniu, Klinika Przeżuwaczy

Przemieszczenie trawieńca (PT) jest chorobą rozprzestrzenioną na całym świecie i dotyczącą głównie krów wysokoprodukcyjnych. Szacuje się, że występuje średnio u 1–3% zwierząt w stadzie, jednak zdarzają się przypadki wyższej prevalencji. Wiele aspektów dotyczących etiologii i patogenезy PT zostało już wyjaśnionych, pozostają jednak pewne niewiadome.

Ogólnie przyjmuje się, że podstawowym czynnikiem predylekcyjnym PT są zaburzenia motoryki i opróżniania trawieńca, które z kolei mogą wiązać z kilkoma innymi czynnikami. Szczególnie zaburzenia metaboliczne, takie jak zmiany stężenia glukozy i insuliny w surowicy krwi, mogą zaburzać motorykę trawieńca. Dodatkowo wykazano, że wyższe ryzyko wystąpienia PT charakteryzuje zwierzęta cierpiące na zakażenia bakteryjne (np. endometritis czy choroby racic), co związane jest z negatywnym wpływem toksyn bakteryjnych na kurczliwość mięśniówki oraz opróżnianie trawieńca.

Zaburzenia gospodarki mineralnej, takie jak hipokalcemia czy hypokalemia również mogą wiązać się z wyższą frekwencją występowania PT [Leonard-Marek 2012]. Hypokalemia często stwierdzana jest u zwierząt o obniżonym apetycie oraz u krów cierpiących, już na PT, jednak nie wiadomo, czy w tym przypadku jest ona przyczyną, czy skutkiem PT.

Zarówno w starszych, jak i nowszych badaniach [Wittek i wsp. 2009] wykazano, że wielkość i kształt jamy brzusznej również mogą odbijać się na częstotliwości występowania PT. Szczególnie wyraźne jest to u zwierząt z głęboką jamą brzuszną i wysokim indeksem abdominalnym. Tłumaczy się to zwiększoną odległością pomiędzy trawieńcem a częścią poprzeczną dwunastnicy, co skutkuje zaburzeniami w opróżnieniu trawieńca, gdyż wymaga zwiększonego ciśnienia w trakcie pasażu treści. Trawieniec jako system niskiego ciśnienia nie jest w stanie sprostać tym wymaganiom, a co za tym idzie, dochodzi do zaburzeń w opróżnianiu narządu, co z kolei predysponuje do przemieszczenia. Inne czynniki mechaniczne, takie jak objętość i położenie trawieńca czy wpływ ciężarnej macicy wydają się mieć mniejsze znaczenie [Wittek i wsp. 2007].

Dziedziczna skłonność do PT jest wciąż sprawą dyskusyjną. W badaniach wykorzystujących różne metody diagnostyczne uzyskano rozbieżne wyniki. Ogólnie rzecz ujmując, współczynnik odziedziczalności jest niski (0,0–0,25). Sickinger i wsp. [2008] wykazali różnice osobnicze oraz pomiędzy rasami (HF i Simmental) dotyczące czynników działających hamująco i prokinetycznie w obrębie ściany trawieńca, co może wyjaśniać różnice w częstotliwości występowania PT u tych ras. Momke i wsp. [2008] zidentyfikowali geny prawdopodobnie związane z ryzykiem występowania PT.

W podsumowaniu warto zaznaczyć, że przemieszczenie trawieńca jest powiązane z wieloma czynnikami, jednak ich znajomość w znacznym stopniu pozwala na wprowadzenie odpowiedniej profilaktyki.



## WYSTĘPOWANIE I CHARAKTERYSTYKA GENETYCZNA ENTEROPATOGENNYCH SZCZEPÓW *E. COLI* IZOLOWANYCH OD CIELĄT

### PREVALENCE AND VIRULENCE FACTORS IN ENTEROTOXIGENIC *ESCHERICHIA COLI* ISOLATED FROM CALVES IN POLAND

Michał Bednarski, Maciej Kuczkowski, Alina Wieliczko

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: [michal.bednarski@up.wroc.pl](mailto:michal.bednarski@up.wroc.pl)

Biegunki cieląt wywoływane przez enterotoksyczne szczepy *E. coli* (ETEC) najczęściej notuje się w pierwszych 3–4 dniach życia. U starszych zwierząt przyczyną biegunek jest złożona (zakażenia bakteryjne, wirusowe i pasożytnicze). Szczepy ETEC charakteryzują się obecnością fimbrii oraz zdolnością do produkcji enterotoksyn. Fimbrie umożliwiają kolonizację jelit poprzez adhezję do enterocytów. U szczepów ETEC izolowanych z przypadków biegunek cieląt najczęściej stwierdzana była obecność fimbrii F5 (dawniej K99), F41, F17 czy F4 – CS31A (K88). Wśród toksyn produkowanych przez szczepy ETEC można wyróżnić dwie enterotoksyny ciepłostale (STa i STb) oraz enterotoksynę ciepłochwiejną (LT). Najważniejszą rolę w etiologii biegunek cieląt odgrywają szczepy produkujące enterotoksynę STa. Celem badań było określenie częstości występowania zakażeń cieląt szczepami oraz charakterystyka genetyczna wyizolowanych szczepów ETEC w zakresie posiadania genów odpowiedzialnych za syntezę poszczególnych fimbrii oraz toksyn. Ponadto, wyizolowane szczepy zostały scharakteryzowane pod względem oporności na wybrane chemioterapeutyki.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próby zebrane w okresie od listopada 2010 do grudnia 2011 od 180 cieląt z 15 obiektów hodowlanych. Obecność w badanym materiale szczepów należących do grupy ETEC była określana na podstawie posiadania genu/genów toksyn: enterotoksyn ciepłostalnych (STa i STb) oraz enterotoksyny ciepłochwiejnej (LT). Natomiast charakterystyka poszczególnych szczepów została przeprowadzona na podstawie posiadania genów toksyn i fimbrii F5 (K99), F41, F17, F4 (K88).

**Wyniki:** Występowanie szczepów ETEC stwierdzono u 78 cieląt (43,3% badanych cieląt) w 12 obiektach hodowlanych. Charakterystyka wyizolowanych szczepów ETEC (zarówno od zwierząt chorych, jak i nie wykazujących objawów biegunkowych) w zakresie posiadanych genów zjadliwości wykazała, że wśród 78 izolatów największą grupę stanowiły szczepy wytwarzające toksynę STa (85,9%), następnie LT1 (10,3%) i STb (3,8%). Szczepy posiadające geny LT1 i STb były izolowane od cieląt nie wykazujących objawów chorobowych. Wśród badanych antygenów fimbrialnych dominowała F41 (66,6%), natomiast fimbrie F5 oraz F4 stwierdzono u odpowiednio w 19,2 i 10,4% szczepów.

**Omówienie:** Spośród wyizolowanych szczepów ETEC największą grupę stanowiły szczepy posiadające antygen fimbrialny F41 (64,3%). Wynik ten jest o tyle istotny, że szczepionki stosowane w zapobieganiu biegunkom cieląt, a zwłaszcza komercyjne testy diagnostyczne oparte są na fimbrii F5 (K99).





## WPŁYW MEGLUMINIANU FLUMEKTYNY NA WYNIKI PRZENOSZENIA ZARODKÓW W ZALEŻNOŚCI OD CZASU PASAŻU PISTOLETU PRZEZ SZYJKĘ MACICZNĄ

### EFFECT OF THE MEGLUMINE FLUMETHRIN AND THE TIME OF EMBRYO TRANSFER ON A PREGNANCY RATES IN BOVINE

Jarosław Czeladko, Jan Włodarek, Jędrzej Maria Jaśkowski

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Weterynarii, ul. Wojska Polskiego 52, 60-628 Poznań, e mail: jasko@up.poznan.pl

**Wstęp:** Przedłużające się manipulacje na szyjce macicznej mogą wywierać niekorzystny wpływ na rozwój zarodka. Przedłużający się czas pasażu pistoletu przez szyjkę maciczną do miejsca depozycji zarodka wpływa niekorzystnie na rezultaty zacielen u biorczyń zarodków. Megluminian flumektyny – niesterydowy środek przeciwzapalny – może zmniejszać te negatywne konsekwencje.

**Cel badań:** Ustalenie wpływu podawania megluminianu flumektyny (FM) na wyniki zacielen u biorczyń w zależności od czasu pasażu pistoletu poprzez szyjkę maciczną do miejsca depozycji zarodka.

**Materiał i metody:** W badaniach wykorzystano 215 jałowic biorczyń zarodków. Ich przeciętna kondycja (BCS) wynosiła 2,79, a wiek mierzony w miesiącach 16,3. Bezpośrednio przed zabiegiem dokonywano wstępnej selekcji biorczyń, przeznaczając do transferu wyłącznie te samice, u których na jajniku(-ach) stwierdzono obecność dobrze rozwiniętych struktur ciała żółtego. Zarodki w stadium moruli do blastocysty o więcej niż średniej jakości wprowadzano do macicy za pomocą pistoletu Cassou, z osłonką jednokrotnego użytku. Zwierzęta podzielono na dwie grupy. Do pierwszej – eksperymentalnej – zaliczono 120 jałowic, które bezpośrednio przed zabiegiem transferu zarodka otrzymywały iniekcję domięśniową 500 mg flumektyny w postaci megluminianu flumektyny (10 ml preparatu Finadyne® Solution). Pozostałe 95 służyło jako kontrola. Mierzono czas niezbędny na pasaż pistoletu przez szyjkę maciczną do miejsca depozycji zarodka wewnątrz rogu macicy.

**Wyniki i omówienie:** Przeciętny czas pasażu pistoletu wyniósł 80,9 s. W zależności od czasu pasażu samice podzielono na trzy grupy. Do grupy I zaliczono te zwierzęta, u których czas ten był krótszy od 60 s. Do grup II i III natomiast samice, u których czas niezbędny do pasażu pistoletu wyniósł od 61 do 120 s i > 210 s.

Odsetek zacielenych w grupie otrzymujących FM był nieznacznie wyższy niż w grupie kontrolnej i wynosił 59,1 wobec 53,6%. Odsetek zacielen w grupie biorczyń, u których czas pasażu pistoletu przez kanał szyjki macicznej był krótszy od 60 s., w grupie doświadczalnej wynosił 63,2, w kontrolnej natomiast 63,3%. Wydłużanie czasu pasażu niezbędnego do depozycji zarodka powodowało pogorszenie wskaźnika zacielen. Przykładowo, w podgrupach II i III zacieliło się odpowiednio 47 i 57,1%, podczas gdy w analogicznych podgrupach otrzymujących iniekcję FM – odpowiednio 54,2 i 66,7%. Wydaje się, że niezależnie od jakości zarodka parenteralne podanie biorczyniom megluminianu flumektyny bezpośrednio przed zabiegiem ET może wywierać korzystny wpływ na wyniku zacielen szczególnie w grupie samic, u których wydłużeniu uległ czas pasażu pistoletu Cassou do miejsca depozycji zarodka.

## PRZYPADEK WRODZONEGO PRZEMIESZCZENIA SERCA U CIELEŃCIA RASY LIMOUSINE

### CONGENITAL STERNAL ECTOPIA CORDIS IN LIMOUSINE CALF

Hieronim Frąckowiak<sup>1</sup>, Jędrzej Maria Jaśkowski<sup>2</sup>, Maria Nabzdyk<sup>1</sup>, Beata Kociucka<sup>3</sup>,  
Izabela Szczerbal<sup>3</sup>, Marek Świtoński<sup>3</sup>, Dorota Bukowska<sup>2</sup>, Paweł Antosik<sup>2</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, <sup>1</sup>Zakład Anatomii Zwierząt, e-mail: hierofro@up.poznan.pl,

<sup>2</sup>Katedra Weterynarii, <sup>3</sup>Katedra Genetyki i Hodowli Zwierząt

*Ectopia cordis* jest wadą rozwojową polegającą na przemieszczeniu serca poza nieprawidłowo ograniczoną jamę klatki piersiowej. W zależności od miejsca przemieszczenia serca anomalię tę klasyfikuje się jako szyjną, piersiową (mostkową) lub brzusznią (*ectopia cordis cervicalis*, *e.c. pectoralis (cervicalis)* et *e.c. abdominalis*). Ponadto opisano również przypadki ektopii szyjno-piersiowej i piersiowo-brzuszej (*cervico-pectoralis* et *thoraco-abdominalis ectopia cordis*). Częstość pojawiania się jej wynosi u człowieka 7,9 na milion urodzeń, natomiast u bydła odsetek ten jest znacznie niższy (nie przekracza 1%). Zwierzęta dotknięte tą wadą giną krótko po urodzeniu lub też przeżywają kilka lat, najczęściej do okresu dojrzałości [Wyrost, Radek 1982].

**Cel pracy:** Przedstawienie rzadziej występującego przypadku *ectopia cordis* typu mostkowego u cielęcia rasy Limousine.

**Materiał i metody:** Przypadek przemieszczenia serca *ectopia cordis* poza jamę piersiową opisano u noworodka bydła płci żeńskiej, rasy mięsnej Limousine. Poród odbył się siłami natury bez komplikacji, cielę wykazywało dużą żywotność. Zwierzę poddano eutanazji. Naczynia krwionośne wypełniono barwionym laktem LBS 3060, a następnie materiał utrwalono w 10% formalinie, po czym preparowano ręcznie. Mostek odpreparowano i wykonano jego zdjęcia rentgenowskie. Pobrano również wycinek skóry, z którego w hodowli *in vitro* uzyskano fibroblasty, a następnie sporządzono preparaty chromosomowe.

**Wyniki i omówienie:** U badanego cielęcia serce znajdowało się poza jamę piersiową w okolicy mostkowej na lewo od płaszczyzny strzałkowej. Serce nie było umieszczone w jamie osierdzia (brak jamy osierdzianej), a część osierdzia włóknistego z blaszką ścienną osierdzia surowiczego układała się także poza jamę piersiową na mostku doogonowo względem serca. Pozostała część osierdzia zamykała otwór w mostku i przetrwała do przepony.

Część wstępująca aorty była wydłużona (długość ok. 100 mm, średnica ok. 11 mm), przy czym łuk aorty nie był wyraźnie zaznaczony. Od aorty odchodziła najpierw bezpośrednio tętnica podobojczykowa lewa, a przy niej pień ramiennie-główny, który ulegał podziałowi na trzy odnogi: tętnicę szyjną wspólną lewą, tętnicę szyjną wspólną prawą z tętnicą podobojczykową prawą. Aorta od miejsca połączenia z przewodem tętniczym ulegała znacznemu rozszerzeniu. Od części piersiowej i części brzusznej aorty odchodziły typowe dla bydła odgałęzienia. Podział końcowy aorty odejmował również typowe dla gatunku tętnice. Przewód tętniczy był cieńszy od wychodzącego z komory prawej pnia płucnego i nie wykazywał żadnych oznak obliteracji.

W konsekwencji przemieszczenia serca nastąpiła modyfikacja budowy mostka, który przyjął kształt pierścieniowaty.

Stwierdzony w badaniach własnych zmieniony wzorzec podziału tętnic łuku aorty był podobny do wzorca podziału tych tętnic u psa i innych zwierząt mięsożernych. Podobną modyfikację wzorca podziału tętnic łuku aorty, w przypadku *ectopia cordis cervicalis*, opisali Hiraga i Abe [1986], natomiast pośredni pomiędzy psem a świnia typ stwierdzono w *cervico-pectoralis e.c.* [Hiraga i wsp. 1993]. W przypadku *ectopia cordis sternalis* wzorzec podziału omawianych tętnic Nakayama [1985] cyt. za: Hiraga i wsp. [1993] określił jako pośredni pomiędzy świnia i bydłem.



## CZYNNIKI POWIĄZANE Z WYŻSZĄ SKUTECZNOŚCIĄ ZABIEGÓW INSEMINACYJNYCH U KRÓW PO INIEKCJI GN-RH –OBSERWACJE TERENOWE

### FACTORS CONNECTED WITH HIGHER CONCEPTION RAT OF MILK COWS INSEMINATED WITH GN-RH INJECTION – FIELD OBSERVATIONS

Marek Gehrke, Janusz Danek, Monika Bojanowska

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy, Zakład Rozrodu i Ochrony Zdrowia Zwierząt, 85-084 Bydgoszcz, e-mail: gehrke1@tlen.pl

Programy synchronizacji rui są standardowym postępowaniem zmierzającym do poprawy organizacji rozrodu na fermach bydła mlecznego [1]. Stanowią one alternatywę wobec uciążliwej, wielodniowej obserwacji samicy szczególnie na fermach o dużej liczbie pogłowa. Skuteczność zabiegów unasienniania pozostaje jednak nadal niska mimo skrócenia okresu obserwacji celem wykrycia rui. Upatrując przyczyn niskiej skuteczności inseminacji w asynchronizacji między terminem unasienniania a owulacją, a także w zaburzeniach owulacji, kojarzy się ją z farmakologiczną indukcją owulacji [2, 3]. Celem badań było porównanie wpływu różnych czynników osobniczych na wskaźnik zacielen krów objętych programem synchronizacji rui z użyciem PGF<sub>2α</sub> i indukcji owulacji po podaniu analogu GnRH przy unasiennianiu.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w trzech gospodarstwach na 198 krowach mlecznych (74 pierwiastkach i 124 wieloródkach) o wydajności 6,000–9,700 kg mleka/305 dni laktacji. Losowo typowym krowom powyżej 40. dnia po porodzie, u których badaniem *per rectum* stwierdzono na jajniku ciało żółte, podawano domięśniowo 500 µg kloprostenolu, zalecając uważną obserwację przez najbliższe siedem dni i unasiennianie wg objawów rui. U pozostałych krów zalecono unasiennianie w rui spontanicznej. W obydwu grupach krów naprzemiennie przy inseminacji podawano *i.m.* 10,5 µg/szt. octanu busereliny. Badania statystyczne obejmowały ocenę skuteczności unasiennień z uwzględnieniem wpływu numeru zabiegu, liczby przebytych porodów, czasu od porodu do wykonania inseminacji oraz wielkości maksymalnej produkcji mleka i proporcji między zawartością tłuszczu i białka w mleku. U wszystkich krów objętych badaniami okres obserwacji zakończono w chwili stwierdzenia ciąży badaniem *per rectum* wykonanym po 42. dniu od inseminacji.

**Wyniki i omówienie:** Średnie zużycie nasienia na ciążę w badanej populacji krów wynosiło 2,07 porcji. Wyższy wskaźnik zacielen obserwowano tylko po pierwszej i drugiej inseminacji krów, u których przy unasiennianiu podano analog GnRH. Poprawę wskaźnika zacielen obserwowano zarówno po unasiennieniach wykonanych w rui synchronizowanej, jak i spontanicznej. Znacząco niższe wartości wskaźnika zacielen stwierdzono u pierwiastek i wieloródek, u których owulacja nie była „prowokowana” farmakologicznie, a inseminacje wykonano w rui spontanicznych. Z analizy zebranych danych wynika, że farmakologiczna indukcja owulacji poprawia wskaźnik zacielen zarówno po unasiennieniach wykonanych do 90., jak i po 90. dniu od porodu. Wyższy odsetek ciąż obserwowano po zabiegach inseminacyjnych z równoczesną indukcją owulacji niezależnie od wielkości maksymalnej produkcji mleka i wartości wskaźnika % tłuszczu/% białka w mleku. Najwyższą skuteczność inseminacji w połączeniu z iniekcją octanu busereliny odnotowano u krów z maksymalną produkcją mleka <40 kg/dzień i wartościami wskaźnika % tłuszczu/% białka <1,5 w pierwszej próbie udojowej.



## WSKAŹNIKI HEMATOLOGICZNE U CIELĄT Z BOVINE NEONATAL PANCYTOPENIA HAEMATOLOGY INDICES IN BOVINE NEONATAL PANCYTOPENIA CALVES

Marek Gehrke, Jędrzej Maria Jaśkowski

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Weterynarii, 60-625 Poznań,  
e-mail: [gehrke1@tlen.pl](mailto:gehrke1@tlen.pl)

Etiopatogeneza Bovine Neonatal Pancytopenia (BNP) jest powiązana ze szczepieniami ochronnymi przeciw Bovine Viral Diarrhoea/Mucosal Disease (BVD/MD) z zastosowaniem szczepionki PregSure (Pfizer). Charakterystyczne kliniczne objawy skazy krwotocznej ujawniają się zwykle w 2.–3. tygodniu życia cieląt. Do tego wieku nie obserwuje się zmian w ich rozwoju i zachowaniu. Letalny charakter choroby prowadzi zwykle do śmierci cieląt od 1 do 7 dni – od chwili pojawienia się pierwszych symptomów skazy. Analiza terenowych i eksperymentalnie wywołanych zachorowań wskazuje na istnienie różnych wariantów rozwoju i przebiegu choroby. Różnice dotyczą nasilenia zmian patologicznych w szpiku kostnym oraz w morfologii krwi. Mimo wysokiej śmiertelności, sięgającej 90%, notowano przypadki „ozdrowień” cieląt z klinicznymi objawami BNP, jak również subkliniczny przebieg choroby. Celem pracy jest ocena wartości wskaźników hematologicznych krwi cieląt w chwili zachorowania, wzajemnych proporcji między nimi w powiązaniu z objawami skazy, ich nasileniem oraz czasem przeżycia.

**Materiał i metody:** Analizie hematologicznej poddano próbki krwi od 25 cieląt, które zachorowały w okresie od sierpnia 2010 do sierpnia 2011 r. Badania wykonano u 12 buhajków – 7 rasy simentalskiej i 5 mieszańców (HF x simentalska) oraz 13 cieliczek – 5 rasy simentalskiej i 7 mieszańców (HF x simentalska), a także 1 cieliczki rasy HF. Badania hematologiczne obejmowały liczbę płytek krwi, leukocytów, frakcji leukocytarnych, erytrocytów, hemoglobiny (Hb) i hematokrytu (Ht). Analizę wyników wykonano, korzystając z narzędzi pakietu statystycznego STATISTICA PL.

**Wyniki i omówienie:** Wśród objawów choroby dominowały skórne krwawienia (68,1%). Równie często (66,0%) obserwowano wybroczyny na brzusznej powierzchni języka, w śluzówce przedsionka jamy ustnej i krwawienia w okolicy szyjek zębów siecznych. Krwawą biegunkę stwierdzono u 29,8% cieląt, natomiast wynacznienia na śluzawicy i krwawienia z nosa w 19,1% przypadków. Charakterystyczne stróżki krwi obserwowano najczęściej na bokach szyi oraz głowie cieląt (50,0 i 46,9%), a także na grzbiecie oraz kończynach piersiowych i miednicznych (40,6; 28,1 i 21,8%). Masywne krwawienia (>50 miejsc krwawienia) oraz znaczne (20–40) stwierdzono u 18,7% cieląt. Umiarkowane i nieznaczne (kilkanaście lub kilka miejsc) w 34,3 i 25,0% przypadków. U wszystkich cieląt stwierdzono trombocytopenię (liczba płytek  $<200 \times 10^9/l$ ). Wśród nich dominowały cielęta z bitycopenią (76,0%) tj. trombocytopenią i leukopenią (liczba leukocytów  $<3.5 \times 10^9/l$ ). U 9 cieląt stwierdzono również obniżoną liczbę erytrocytów ( $<4,5 \times 10^9/l$ ), a u 14 (56,0%) obniżony poziom hemoglobiny (Hb  $<8$  g/dL) i hematokryt (Ht  $<24\%$ ). U cieląt, które chorowały bez krwotocznych objawów skazy, liczba erytrocytów, zawartość Hb i wartości Ht były wyższe. Przyjmując przeciętny, czternastodniowy czas życia cieląt z BNP (średnio  $14,7 \pm 6,2$  dni) stwierdzono, że u przeżywających dłużej odnotowuje się niższą liczbę erytrocytów, obniżone stężenie Hb oraz obniżoną wartość Ht. Nie stwierdzono odchyżeń w zakresie MCV, MCH i MCHC. Objawy krwotoczne, a szczególnie punktowe krwawienia na skórze były przyczyną zgłaszania i podejrzenia o BNP cieląt w wieku powyżej dwóch tygodni.



## BADANIE SKŁADU KRĄŻĄCYCH KOMPLEKSÓW IMMUNOLOGICZNYCH W SUROWICY KRÓW Z ZAPALENIEM GRUCZOŁU MLEKOWEGO

### STUDY OF THE COMPOSITION OF CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN THE SERUM OF COWS WITH MASTITIS

Ryszard Gołda<sup>1</sup>, Hanna Markiewicz<sup>2</sup>, Krzysztof Sondej<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Kazimierza Wielkiego, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Biochemii i Biologii Komórki, ul. Chodkiewicza 30, 85-064 Bydgoszcz, e-mail: goldar@ukw.edu.pl

<sup>2</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Oznaczanie występowania krążących kompleksów immunologicznych (KKI) w surowicy oraz analiza białek wchodzących w ich skład były często wykorzystywane w diagnostyce wielu chorób u ludzi. Jednym z efektów odpowiedzi układu odpornościowego jest wzrost poziomu krążących kompleksów immunologicznych w surowicy. W dostępnej literaturze nie znaleziono natomiast prac dotyczących tej tematyki u krów z zapaleniem gruczołu mlekowego.

**Cel badań:** Przedstawienie zestawu wybranych procedur laboratoryjnych, umożliwiających wstępną analizę ilościową oraz jakościową KKI i zbadanie występowania atypowych białek we frakcji immunokompleksów uzyskanych z surowic krów chorych na *mastitis*.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły surowice pochodzące od 10 krów klinicznie zdrowych oraz od 13 z *mastitis*. Poziomy kompleksów immunologicznych w surowicach określono metodą Haskowej [3]. Z badanych surowic izolowano frakcje białkowe immunokompleksów i prowadzono ich dysocjację mającą na celu uwolnienie białek stanowiących część antygenową. Dalsza analiza jakościowa prowadzona była przy zastosowaniu elektroforezy SDS-PAGE. Wchodzące w skład KKI białka wizualizowano Coomassie Brilliant Blue w połączeniu z czułą metodą srebrową.

**Wyniki i omówienie:** W surowicach krów z *mastitis* stwierdzono podwyższone poziomy krążących kompleksów immunologicznych ( $E_{450}$  wynosiła  $\bar{x} = 0,382 \pm 0,080$  w porównaniu z grupą kontrolną ( $E_{450}$  wynosiła  $\bar{x} = 0,231 \pm 0,076$ ). Analizując profile białkowe rozdziałów elektroforetycznych wykazano także różnice występujące pomiędzy grupą kontrolną (22 frakcje białkowe) a grupą z *mastitis* (17 frakcji białkowych). We frakcji KKI izolowanej z surowic krów z *mastitis* określono obecność atypowego białka o masie 160 kDa. Wydaje się, że analiza KKI w surowicach zwierząt, ich dysocjacja i identyfikacja części antygenowej pod względem swoistości mogą uzupełnić wiedzę odnośnie ogólnoustrojowego oddziaływania lokalnego stanu zapalnego.





## MIESZANE ZAKAŻENIE WYWOŁANE PRZEZ *CLOSTRIDIUM SORDELLI* I *CLOSTRIDIUM BIFERMENTANS* U OWIEC

### MIXED ANAEROBIC INFECTION BY *CLOSTRIDIUM SORDELLI* AND *CLOSTRIDIUM BIFERMENTANS* IN SHEEP

Łukasz Jarosz<sup>1</sup>, Zbigniew Grądzki<sup>1</sup>, Krzysztof Kwiatek<sup>2</sup>, Ewa Kukier<sup>2</sup>, Tomasz Gręda<sup>2</sup>,  
Marcin Kalinowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: gradzki@up.lublin.pl

<sup>2</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Pasz, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Zakażenia wywołane przez beztlenowce z rodzaju *Clostridium* odgrywają istotną rolę w patologii owiec. Jednym z ważniejszych zespołów chorobowych jest martwicowe zapalenie wątroby (blackdisease), do którego usposabia wcześniejsze uszkodzenie narządu przez migrujące larwy motylicy wątrobowej. Z przypadków takich najczęściej izolowane są toksynotwórcze beztlenowce z gatunku *Clostridium novyi* typu B. W dostępnym piśmiennictwie niewiele jest danych nt. występowania i roli innych beztlenowców w etiopatogenezie martwicowego zapalenia wątroby.

**Cel badań:** Izolacja i identyfikacja toksynotwórczych beztlenowców z przypadków nagłych padnięć owiec w hodowli na terenie południowo-wschodniej Polski.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 20 padłych owiec rasy Suffolk w wieku od 2–4 lat. W wywiadzie ustalono, że przypadkom nagłych padnięć owiec nie towarzyszyły z reguły objawy kliniczne. U części zwierząt stwierdzano silne osłabienie i zaleganie, szybko prowadzące do zejścia. Badaniem anatomicznym, wykonywanym w okresie do 2 godzin po padnięciu, stwierdzono zmiany typowe dla martwicowego zapalenia wątroby. Do badania bakteriologicznego i histopatologicznego pobrano wycinki chorobowo zmienionej wątroby i nerek. Materiał posiewano na pożywkę Willis-Hobbsa i inkubowano w 37°C przez 48 godz. w warunkach beztlenowych i tlenowych. Cechy biochemiczne wyizolowanych szczepów określono przy użyciu komercyjnych testów RapidID 32A oraz API 20A.

**Wyniki i omówienie:** Badaniem histopatologicznym wycinków wątroby stwierdzono liczne ogniska martwicy rozplywanej, naciek zapalny komórek jednojądrzastych i granulocytów, rozrost podścieliska łącznotkankowego oraz obecność pasożytów w przewodach żółciowych. Zmiany te są charakterystyczne dla marskości pasożytniczej spowodowanej inwazją motylicy wątrobowej oraz towarzyszącego martwicowego zapalenia wątroby. Obszary martwicy rozplywanej z silnym odczynem zapalnym stwierdzono również w węzłach chłonnych i ścianach kanalików nerkowych. Badaniem hodowlanym w warunkach beztlenowych stwierdzono wzrost mieszanej flory drobnoustrojów o cechach charakterystycznych dla rodzaju *Clostridium*. Badaniem biochemicznym potwierdzono przynależność wyizolowanych szczepów bakterii do gatunków *Cl. sordelli* i *Cl. bifermentans*. Przeprowadzone badanie bakteriologiczne oraz biochemiczne wykazało obecność w badanym materiale także nielicznych kolonii należących do gatunku *Cl. novyi* typu B. Uzyskane wyniki badań wskazują na rosnące znaczenie innych gatunków beztlenowców, niż powszechnie opisywany *Cl. novyi* typu B, w etiologii i patogenezie martwicowego zapalenia wątroby owiec.



## OCENA WPŁYWU STANU ZAPALNEGO GRUCZOŁU MLEKOWEGO NA STĘŻENIE MIEDZI I CYNKU WE KRWI KRÓW

### EVALUATION OF INFLUENCE OF CLINICAL MASTITIS ON COPPER AND ZINC CONCENTRATION IN BLOOD SERUM OF DAIRY COWS

**Tomasz Jasiński<sup>2</sup>, Mirosław Kleczkowski<sup>1</sup>, Włodzimierz Kluciński<sup>1</sup>, Zdzisław Gajewski<sup>2</sup>,  
Tadeusz Jakubowski<sup>2</sup>, Olga Aniołek<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa

<sup>2</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny, Katedra Chorób Zwierząt Gospodarskich z Kliniką, Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 100, 02-787 Warszawa

Celem badań była ocena wpływu zapalenia gruczołu mlekowego na stężenia miedzi i cynku we krwi krów mlecznych podczas leczenia cefoquinomem. Badania zostały przeprowadzone na 16 krowach. Na podstawie klinicznych i mikrobiologicznych badań krowy zostały podzielone na 2 grupy. Grupa 1 chorowała na zapalenie gruczołu mlekowego, a z próbek ich mleka zostały wyizolowane bakterie *Staphylococcus aureus*. Grupa 2 była w tym badaniu grupą kontrolną. Wszystkie krowy poddano wstępnym badaniom klinicznym, łącznie z badaniem palpacyjnym gruczołu, oceną zmian makroskopowych w mleku i oceną zmian liczby komórek somatycznych w mleku przy użyciu CMT. Pobrano próbki mleka celem zidentyfikowania czynników patogennych. Ocena zmian ilości komórek została wykonana przy użyciu techniki mikroskopowej. Próbkę krwi od wszystkich krów zostały pobrane 9 razy z żyły szyjnej przed, w trakcie i po leczeniu cefoquinomem. Stężenie miedzi zostało zbadane metodą ASA.

Wyniki badań klinicznych gruczołu, organoleptycznego badania mleka, zmian ilości komórek somatycznych w mleku i bakteriologicznego badania mleka potwierdziły, że u krów z grupy 1 występował stan zapalny gruczołu mlekowego. Największa ilość komórek somatycznych była obecna w mleku krów z grupy 1, z kolei najmniejsza u krów z grupy 2. Najwyższe stężenie miedzi w surowicy krwi zostały odnotowane u krów z grupy 1 (15,9; 15,6; 14,8; 14,2; 13,9; 13,1; 11,9; 10,8; 9,9  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ) następnie u krów z grupy 2 (9,5; 9,4; 9,7; 9,9; 10,1; 9,6; 9,2; 9,7; 9,8  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$ ). Mechanizm reakcji odpowiedzialnej za wywołanie stanu zapalnego nie jest do końca poznany. W wypadku niedoboru miedzi w diecie przeżuwaczy występuje zwiększona podatność na infekcje. Infekcja może stymulować wzrost stężenia miedzi w surowicy. Nasze obserwacje i badania potwierdziły, że stan zapalny gruczołu mlekowego ma wpływ na stężenie miedzi i cynku we krwi krów mlecznych.



## BNP U CIELĄT – 18 MIESIĘCY PO ZAPRZESTANIU SZCZEPIEŃ PRZECIWI BVD/MD

### INVESTIGATION OF BNP SYNDROME IN CALVES – 18 MONTHS AFTER VACCINATION AGAINST BVD/MD

Jędrzej Maria Jaśkowski, Marek Gehrke, Aleksandra Żuraw, Jan Włodarek

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Weterynarii ul. Wojska Polskiego 52, 60-6625 Poznań, e-mail: jasko@up.poznan.pl

**Wstęp:** Przypadki noworodkowej pancytopenii cieląt (BNP) w wyniku szczepień przeciw BVD/MD szczepionką Pregsure były względnie częste w latach 2009 i 2010. Tempo wygasania choroby po zaprzestaniu szczepień w stadach dotkniętych BNP nie jest bliżej znane.

**Cel badań:** Prezentacja skali upadków cieląt w stadzie o wysokiej częstości BNP w okresie 18 miesięcy po zaprzestaniu szczepień przeciw BVD/MD z zastosowaniem szczepionki Pregsure (Pfizer).

**Materiał i metody:** Stado podstawowe, z którego pochodziły cielęta wywodziło się z Bawarii i zakupione zostało w 2007 r. Od tego czasu systematycznie kojarzono je z bydłem holsztyńsko-fryzyjskim należącym do właściciela. Na terenie Bawarii było sukcesywnie szczepione przeciw BVD. Po przewiezieniu do Polski podjęto decyzję o przedłużeniu szczepienia bydła simentalskiego oraz objęcie nim pozostałych krów. Pierwsze, jednokrotne szczepienie przeprowadzono w maju 2007 r. z zastosowaniem szczepionki Mucobovin firmy Merial, wszystkie kolejne od 2008 r. wykorzystując szczepionkę PregSure firmy Pfizer. Szczepienia kontynuowano do czerwca 2010 r, tj. do momentu zakazu stosowania tej szczepionki w UE i kraju. Od tego czasu zaprzestano szczepień przeciw BVD w ogóle. Pierwsze pojedyncze „krwawiące” cielęta pojawiły się według personelu w 2009 r. Analogicznie kilka zwierząt odnotowano od początku roku 2010 do lipca. Ich cechą charakterystyczną były niekrzepnące krwawienia ze skóry, przypominające pot. Od lipca 2010 do grudnia 2011 r. wszystkie cielęta w gospodarstwie objęto szczegółowym monitoringiem. W miarę możliwości sukcesywnie dojeżdżano do zgłoszonych przypadków krwawień, dokonując oględzin, pobierając krew do badań. U części zwierząt przeprowadzono sekcję zwłok na miejscu lub po przewiezieniu do Uniwersytetu Przyrodniczego. Równocześnie przeprowadzono analizę dotyczącą częstości upadków w stadzie od początku 2008 r.

**Wyniki i omówienie:** Częstość upadków cieląt w stadzie G w latach 2008–2011 przedstawiała się następująco – 3,2; 15,9; 21,9; 18,7%. Z analizy tej wynika, że najwyższą częstość upadków notowano w latach 2009–2011. W tym okresie padło ogółem aż 316 cieląt spośród 1664 narodzonych (18,9%). Tymczasem w roku 2008 padło zaledwie 21 cieląt spośród 651 (3,2%) narodzonych. Podobnie, w pierwszych niespełna czterech miesiącach 2012 r., (ponad 1,5 roku po zaprzestaniu szczepień) – padło 11 (7,1%) spośród 153 cieląt, przy czym u żadnego cielęcia nie odnotowano już klinicznych objawów skazy. W ciągu pierwszego roku po zaprzestaniu szczepień – od lipca 2010 do końca czerwca 2011 r. padło w okresie pourodzeniowym 148 (26,4%) cieląt spośród 561. Ostatni kliniczny przypadek krwawień ze skóry odnotowano w sierpniu 2011 r. (po 14 miesiącach od zaprzestania szczepień). Do tego okresu od lipca 2010 r. padło 20 cieląt z klinicznymi objawami skazy krwotocznej. Warto zauważyć, że znaczny odsetek cieląt (46%), u których sekcyjnie wykazywano skazę krwotoczną, potwierdzoną badaniem krwi, nie notowano charakterystycznego „krwawego potu”. Według personelu cielęta padały na biegunkę lub choroby płuc. W rzeczywistości nie można jednoznacznie wykluczać, że głównym powodem upadków była rozwijająca się pancytopenia, w konsekwencji obniżenie odporności na patogeny bakteryjne i wirusowe. Częstość upadków cieląt zaczęła się obniżać wyraźnie od października 2011 r. W ciągu ostatnich 7 miesięcy (październik 2011 – kwiecień 2012 r.) padły ogółem 24 (7,9%) cielęta spośród 303.



## ODPOWIEDŹ OSTREJ FAZY U KRÓW PIERWIASTEK PO BIOPSI WĄTROBY W OKRESIE PRZEJŚCIOWYM

### ACUTE PHASE RESPONSE IN PRIMIPAROUS COWS AFTER LIVER BIOPSY IN TRANSITION PERIOD

Paulina Jawor<sup>1</sup>, Anna Brzozowska<sup>2</sup>, Krzysztof Słoniewski<sup>2</sup>, Zygmunt M. Kowalski<sup>3</sup>,  
Tadeusz Stefaniak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, e-mail: paulina.jawor@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN Jastrzębiec, Zakład Doskonalenia Zwierząt,

<sup>3</sup>Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa

U krów w okresie okołoporodowym dochodzi do fizjologicznej akumulacji trójglicerydów w wątrobie. Nadmierne ich gromadzenie powoduje poważne stłuszczenie wątroby (>40%). Dokładny pomiar ilości odkładanego tłuszczu w wątrobie możliwy jest przez wykonanie jej biopsji, która uznawana jest za złoty standard w ocenie stłuszczenia [Reid i Roberts, 1983]. Infekcja wirusowa, bakteryjna, wzrost nowotworowy czy uraz wywołują reakcję organizmu miejscową i ogólnoustrojową. Jednym z elementów ogólnoustrojowej reakcji zapalnej jest nasilona produkcja białek ostrej fazy, które u przeżuwaczy są lepszym parametrem charakteryzującym stan zapalny niż określanie ilości leukocytów [Godson i wsp., 1995].

**Cel pracy:** Ocena wpływu biopsji wątroby u pierwiastek po wycieleniu na odpowiedź ostrej fazy.

**Materiał i metody:** Badaniami objęto 40 cielnych pierwiastek, z różnych powodów losowych doświadczenie zakończyły 34 krowy. W okresie od przewidywanego terminu 14 dni przed wycieleniem do 21. dnia po wycieleniu zwierzęta otrzymywały glikol propylenowy (GP), glicerynę (G) lub wodę (W) w postaci wlewu doustnego raz dziennie o stałej porze. Wydzielono 5 grup doświadczalnych: 1) GP450 – zwierzęta otrzymujące 450 gramów glikolu propylenowego (n=7); 2) GP900 – zwierzęta otrzymujące 900 g glikolu propylenowego (n=6); 3) G450 – zwierzęta otrzymujące 450 g glicerolu (n=8); 4) G900 – zwierzęta otrzymujące 900 g glicerolu (n=6); 5) W450 – jałówki otrzymujące 450 g wody (n=7). Ilość grup uwarunkowana była równolegle prowadzonymi badaniami nad efektem metabolicznym glikolu i gliceryny. Krew od pierwiastek została pobrana w siódmym dniu przed porodem (-7), oraz w 3, 4, 7 i 14 dniach po porodzie (+3, +4, +7, +14). W dniach -7 oraz +3 wykonano biopsję wątroby. Krew pobierano do próbek zawierających cytrynian sodu i aktywator krzepnięcia. W osoczu oznaczono fibrynogen, a w surowicy pozostałe białka ostrej fazy – bof (haptoglobinę, surowiczy amyloid A) oraz interleukinę-6. Fibrynogen i haptoglobinę oznaczono we wszystkich zgromadzonych próbkach, surowiczy amyloid A w surowicach z dni -7; +3 i +4.

**Wyniki i omówienie:** Badana odpowiedź ostrej fazy (stężenie fibrynogenu, haptoglobiny, surowiczego amyloidu A) przebiegała podobnie w badanych grupach krów. Średnie stężenie Hp (g/L) w kolejnych terminach pobrania krwi dla krów z wszystkich grup łącznie (-7; +3; +4; +7; +14) średnio w grupach wyniosło: 0,18±0,35; 0,87±0,61; 0,71±0,44; 0,43±0,48; 0,12±0,40. Średnie stężenie SAA (mg/L) w badanych terminach wyniosło: 32,42±29,87; 75,01±28,20; 77,09±34,36; 63,13±41,34. Średnie stężenie fibrynogenu (g/L) w badanych terminach wyniosło: 8,1±2,5; 11,1±3,2; 10,5±3,1; 10,9±2,8; 9,5±2,6. Biopsja wątroby przeprowadzona w trzecim dniu po porodzie nie spowodowała wzrostu badanych białek ostrej fazy, co może wskazywać na jej niewielką urazowość.



## WPŁYW SZCZEPIONKI PRZECIW GRONKOWCOWYM ZAPALENIOM WYMIENIA U KRÓW NA WYBRANE PARAMETRY IMMUNOLOGICZNE W MLEKU ORAZ HEMATOLOGICZNE WE KRWI

### THE INFLUENCE OF VACCINE AGAINST STAPHYLOCOCCI MASTITIS IN COWS ON SELECTED IMMUNOLOGICAL PARAMETERS IN MILK AND HEMATOLOGICAL IN BLOOD

Michał Kaczmarowski, Wiesław Krumrych, Sebastian Smulski

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Al. Powstańców Włkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, e-mail: vetri@logonet.com.pl

Zapalenia gruczołu mlekowego u krów pozostają ciągle najczęstszą i najdroższą chorobą bydła przy uwzględnieniu zarówno bezpośrednich strat produkcyjnych i kosztów zwalczania, jak też negatywnego wpływu na zdrowie człowieka, a nawet handel międzynarodowy.

**Cel badań:** Ocena wpływu różnych wariantów doświadczalnej szczepionki na wybrane parametry krwi krów.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 18 krowach, wyselekcjonowanych na podstawie wywiadu (w 3.–8. tygodniu po porodzie), liczby komórek somatycznych (LKS) w mleku zbiorczym (powyżej 200 tys./ml) i dodatnim wyniku badania bakteriologicznego próbek mleka (przedmleko) w kierunku *S. aureus* lub CNS w 1 ćwiartce wymienia. Wśród tych zwierząt wyodrębniono 2 grupy doświadczalne (po 6 krów) oraz jedną grupę kontrolną (6 krów). Zwierzęta zaliczone do pierwszej grupy dośw. otrzymały trzykrotnie, co 14 dni w iniekcjach domięśniowych, po 2 ml szczepionki z doświadczalnym adiuwantem. Zwierzęta drugiej grupy doświadczalnej otrzymały według tego samego schematu szczepionkę o identycznym składzie antygenów, z tym że adiuwantem był sterylne PBS. Grupa kontrolna otrzymała wg ww. schematu po 2 ml sterylnego PBS (placebo). Krew oraz mleko z ćwiartki objętej procesem zapalnym pobierano czterokrotnie – w 1., 2. i 3. dniu szczepienia oraz w 14. dniu po ostatnim szczepieniu. Oznaczono liczbę krwinek białych (WBC) i procentowy udział neutrofilów (N) oraz limfocytów (L). Oznaczenia WBC wykonano przy użyciu analizatora hematologicznego ABCVet (Horiba ABX, Francja). Procentowy udział N i L określono na podstawie mikroskopowej analizy rozmazów krwi barwionych metodą May-Grünwalda-Giemsy.

W mleku badanych zwierząt przeprowadzono ocenę metabolizmu tlenowego neutrofilów metodą chemiluminescencji (CL) wzmacnianej luminolem przy użyciu aparatu Luminoskan Ascent (Thermo Labsystems Finlandia). Wyniki przedstawiono w RLU jako wartości integracji CL, czyli pole powierzchni pod krzywą emisji światła w funkcji czasu (40 min). W próbkach mleka oceniano CL spontaniczną oraz stymulowaną zajęciem receptora dla fragmentu Fc – przeciwciała i dopełniacza, receptora chemotaktycznego, a także drogą pozareceptorową.

Ponadto, w mleku badanych krów oznaczano zawartość immunoglobulin IgG oraz białek ostrej fazy metodą ELISA przy użyciu komercyjnych zestawów diagnostycznych:

- Bovine IgG Elisa Quantitation Set firmy Bethyl Laboratories Inc. (USA),
- Milk Amyloid A (MMA) firmy Tridelta Development Ltd. (Irlandia) oraz
- Bovine Haptoglobin (Hp) Elisa Test Kit firmy Life Diagnostics Inc. (USA).

**Wyniki i omówienie:** Wyniki badań hematologicznych zawierały się w przedziałach wartości prawidłowych, podawanych dla klinicznie zdrowych krów. Nie stwierdzono istotnego wpływu szczepień na oznaczane parametry hematologiczne oraz CL mleka. Pomimo braku statystycznie istotnego zróżnicowania zawartości immunoglobulin w mleku między badanymi grupami zwraca uwagę tendencja do niewielkiego wzrostu stężenia tej frakcji białkowej w następstwie kolejnych szczepień w obu grupach krów chorych. Z kolei niewielki spadek zawartości białek ostrej fazy (MMA, Hp) w pierwszej grupie dośw. podczas kolejnych szczepień zdaje się sugerować nieco większą skuteczność terapii przebiegającej dzięki podaniu szczepionki z doświadczalnym adiuwantem.





## WPŁYW SZCZEPIONKI PRZECIW GRONKOWCOWYM ZAPALENIOM WYMIENIA U KRÓW NA WYBRANE PARAMETRY STATUSU ANTYOKSYDACYJNEGO ORAZ POPULACJE LEUKOCYTÓW WE KRWI

### THE INFLUENCE OF VACCINE AGAINST STAPHYLOCOCCI MASTITIS IN COWS ON SELECTED PARAMETERS OF ANTIOXIDANT STATUS AND LEUCOCYTE POPULATION IN BLOOD

Michał Kaczmarowski, Hanna Markiewicz, Sebastian Smulski, Edward Malinowski

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, e-mail: vetri@logonet.com.pl

Zapalenia gruczołu mlekowego u krów, będące reakcją na zakażenie, pozostają ciągle najczęstszą i najdroższą chorobą bydła. Dotyczy to zarówno bezpośrednich strat produkcyjnych i kosztów zwalczania, jak też negatywnego wpływu na zdrowie człowieka.

**Cel badań:** Ocena wpływu różnych wariantów doświadczalnej szczepionki na wybrane parametry krwi krów.

**Material i metody:** Badania przeprowadzono na 18 krowach wieloródkach, rasy polskiej HF. Zwierzęta selekcionowano na podstawie wywiadu (w 3.–8. tygodniu po porodzie), analizy liczby komórek somatycznych (LKS) w mleku zbiorczym oraz podwyższonej LKS (powyżej 200 tysięcy) i dodatnim wyniku badania bakteriologicznego próbek mleka (przedmleko) w kierunku *S. aureus* lub CNS w 1 ćwiartce wymienia. Wśród tych zwierząt wyodrębniono 2 grupy doświadczalne (po 6 krów każda) oraz jedną grupę kontrolną (6 krów). Szczepionkę zawieszono w PBS lub doświadczalnym adiuwancie i podawano wg schematu: pierwsza iniekcja i.m. (2 ml), po 14 dniach druga iniekcja i.m. (2 ml) i po kolejnych 14 dniach trzecia iniekcja i.m. (2 ml). Zwierzęta zaliczone do pierwszej grupy doświadczalnej otrzymały trzykrotnie po 2 ml szczepionki z doświadczalnym adiuwantem. Zwierzęta zaliczone do drugiej grupy doświadczalnej otrzymały szczepionkę o identycznym składzie antygenowym, z tym że adiuwantem był sterylne PBS. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymały wg ww. schematu po 2 ml sterylne PBS (placebo). Krew pobierano czterokrotnie – w dniu pierwszego, drugiego i trzeciego szczepienia oraz w 14. dniu po ostatnim szczepieniu. W próbkach krwi określono fenotyp subpopulacji limfocytów T (CD2, CD4, CD8) metodą cytometrii przepływowej przy użyciu aparatu FACS Calibur Becton Dickinson, wykorzystując mysie przeciwciała monoklonalne produkowane przez Serotec Ltd. (MCA833F, klon CC42; MCA1653F, klon CC8; MCA836P, klon CC63). Oceniono także całkowity status antyoksydacyjny (TAS) osocza oraz aktywność dysmutazy nadtlenkowej (SOD) w erytrocytach i peroksydazy glutationowej (GPx) w pełnej krwi. Użyto standardowych zestawów odczynników firmy Randox Laboratories Ltd. (Cat.No. NX 2332, SD 125, RS 505).

**Wyniki i omówienie:** Wyniki badań laboratoryjnych krwi mieściły się w przedziałach wartości prawidłowych, podawanych dla klinicznie zdrowych krów. Wśród oznaczonych wskaźników antyoksydacyjnych zwraca uwagę statystycznie istotny wzrost wartości całkowitego statusu antyoksydacyjnego (TAS) osocza krwi u krów w obydwu grupach doświadczalnych. Wydaje się, że reakcja ta mogła być skutkiem obserwowanego zwiększonego generowania wolnych rodników tlenowych przez neutrofile w trakcie kolejnych szczepień. Nie stwierdzono (w zakresie oznaczonych wskaźników) statystycznie istotnego wpływu szczepień na pozostałe parametry krwi.



## SKUTECZNOŚĆ PROGRAMU OVSYNCH W STADACH KRÓW MLECZNYCH EFFECTIVENESS OF THE OVSYNCH PROGRAM IN DAIRY CATTLE HERDS

Kamil Kossakowski<sup>1</sup>, Jarosław Czeladko<sup>2</sup>, Jan Włodarek<sup>3</sup>, Jędrzej Maria Jaśkowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Przychodnia Weterynaryjna „Eskulap”, ul. Bema 33, 11-200 Bartoszyce

<sup>2</sup>Przychodnia Weterynaryjna, ul. Piłsudskiego 26, Tykocin

<sup>3</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Weterynarii,  
e-mail: jasko@up.poznan.pl

**Wstęp:** Program synchronizacji rui i owulacji (Ovsynch) u krów jest powszechnie wykorzystywany w warunkach terenowych. Jednak jak wynika z wielu obserwacji, jego skuteczność – zwłaszcza w przypadku stosowania „w ciemno” – jest niewystarczająca.

**Cel badań:** Ocena efektywności programu Ovsynch u krów w warunkach terenowych, z uwzględnieniem ostrzejszej selekcji samic klasyfikowanych do dalszych etapów programu.

**Materiał i metody:** Szczegółowymi badaniami objęto ogółem 511 krów, które pochodziły z 3 gospodarstw (A–C), o wyrównanych parametrach rozrodu. Liczba krów w poszczególnych obiektach wynosiła 80, 400 i 85, natomiast poddanych badaniom 158, 207 i 146. odp. w gosp. A, B i C. Dwa pierwsze stada były wolne od IBR/IPV oraz BVD/MD, w gospodarstwie C prowadzone były systematyczne szczepienia profilaktyczne przeciw ww. chorobom. U wszystkich krów, które do 60. dnia po ocieleniu nie wykazywały rui, zastosowano jednakowy program synchronizacji rui i owulacji (Ovsynch). Zgodnie z programem w pierwszym jego dniu, samice otrzymywały domięśniową iniekcję 0,10 mg d-Phe<sup>6</sup>-gonadoreliny, zawartej w 2 ml preparatu Depherelin (Veyx-Pharma GmbH), w 7. dniu i.m. iniekcję 0,5 ug cloprostenolu (Estrumate (Intervet-Schering)), oraz powtórzną iniekcję preparatu Depherelin po kolejnych 48 godzinach (9. dzień programu). Krowy unasienniano jednokrotnie nasieniem mrożonym 24 godz. po podaniu drugiej iniekcji GnRH, deponując je w trzonie macicy za pomocą pistoletu inseminacyjnego Cassou. We wszystkich stadach przed podawaniem prostaglandyny przeprowadzano ultrasonograficzną kontrolę jajników, kwalifikując do dalszego etapu eksperymentu wyłącznie te samice, u których stwierdzano obecność dobrze rozwiniętych struktur ciała żółtego. Dodatkowo, w stadzie A analogiczne badanie przeprowadzono przed zabiegiem inseminacji, przeznaczając do unasienniania te samice, u których na jajniku stwierdzono obecność dużego (>15 mm) pęcherzyka dominującego. Badania ultrasonograficzne dokonywano przy użyciu aparatu Honda 1500 wyposażonego w głowicę liniową o częstotliwości 7,5 MHz.

**Wyniki i omówienie:** Odsetek zacielonych samic w gosp. A wyniósł 47,2% i był wyższy od 41,2 i 39,2%, które uzyskano w obiektach C i B. Podsumowując, ostrzejsza selekcja krów pod kątem obecności na jajniku pęcherzyka jajnikowego przed zabiegiem sztucznej inseminacji, umożliwia w warunkach terenowych uzyskanie wyższej skuteczności zacieleń po zastosowaniu programu Ovsynch oraz standardowej inseminacji.



## WRAŻLIWOŚĆ NA ANTYBIOTYKI DROBNOUSTROJÓW WYIZOLOWANYCH Z KLINICZNYCH POSTACI MASTITIS U KRÓW

### ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF BACTERIA ISOLATED FROM CLINICAL BOVINE MASTITIS

Joanna Kubiak, Magdalena Małkińska-Horodyska, Wiesław Krumrych

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruzozłu Mlekowego, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, e-mail: joanna.kubiak@piwet.pulawy.pl

*Mastitis* jest najważniejszą chorobą krów mlecznych wpływającą na duże straty ekonomiczne w przemyśle mleczarskim na całym świecie. Powodowane jest raczej przez ograniczone spektrum bakterii, klasyfikowanych jako patogeny zakaźne i środowiskowe. W zapobieganiu i leczeniu *mastitis* najczęściej używa się antybiotyków, jednak zbyt częste lub niewłaściwe ich stosowanie może prowadzić do rozwoju oporności u różnych szczepów bakterii. Określanie wrażliwości w warunkach *in vitro* może być pomocne dla lekarzy weterynarii w doborze właściwego antybiotyku w leczeniu schorzenia powodowanego przez dany drobnoustroj.

**Cel badań:** Identyfikacja drobnoustrojów powodujących kliniczne postaci *mastitis* u krów oraz określenie ich wrażliwości na powszechnie stosowane antybiotyki.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 659 próbek mleka ćwiartkowego krów wykazujących postać kliniczną *mastitis* ze zmianami makroskopowymi mleka. Badanie bakteriologiczne przeprowadzono za pomocą powszechnie przyjętych metod oraz określono wrażliwość wyizolowanych drobnoustrojów na antybiotyki metodą dyfuzyjno-krążkową, zgodnie z zaleceniami Clinical Laboratory Standard Institute.

**Wyniki i omówienie:** W przeprowadzonym badaniu paciorkowce reprezentowały główną grupę drobnoustrojów powodujących kliniczne postaci *mastitis* u krów. W przypadku gronkowców częstotliwość ich występowania kształtowała się na podobnym poziomie jak pałeczek Gram-ujemnych i była niemal o połowę niższa niż paciorkowców, natomiast drobnoustroje z rodzaju *Corynebacterium* stanowiły mniej niż 5% analizowanych przypadków. Ponadto wśród czynników etiologicznych klinicznego zapalenia wymienia stwierdzono obecność grzybów drożdżopodobnych oraz występujących z najmniejszą frekwencją glonów z rodzaju *Prototheca*. W badanym okresie antybiotykami o najwyższej aktywności w stosunku do ogółu przebadanych paciorkowców były amoksycylina i bacytracyna, natomiast o najniższej neomycyna. Największą efektywnością hamowania wzrostu badanych gronkowców cechowały się amoksycylina z kwasem klawulanowym i bacytracyna, a antybiotykiem o najniższej skuteczności była penicylina. W przypadku pałeczek gram-ujemnych najwyższą skuteczność działania wykazała enrofloksacyna, natomiast najniższą neomycyna. Wszystkie analizowane szczepy z rodzaju *Corynebacterium* były wrażliwe na bacytracynę i cefaleksynę, zaś najniższą wrażliwość stwierdzono w odniesieniu do tetracykliny.



## OPRACOWANIE REAL-TIME RT-PCR DO DIAGNOSTYKI ZAKAŻEŃ PESTIWIRUSOWYCH U BYDŁA

### DEVELOPMENT OF REAL-TIME RT-PCR FOR THE DETECTION OF BOVINE PESTIVIRUS INFECTION

Aleksandra Kuta, Magdalena Larska, Mirosław Paweł Polak

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Wirusologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: [aleksandra.kuta@piwet.pulawy.pl](mailto:aleksandra.kuta@piwet.pulawy.pl)

Wirusowa biegunka bydła i choroba błon śluzowych (BVD-MD) jest jedną z głównych chorób zakaźnych bydła. Zakażenia wirusem BVD-MD są szeroko rozprzestrzenione na całym świecie i prowadzą do znacznych strat ekonomicznych w hodowli bydła, spowodowanych głównie problemami związanymi z rozrodem oraz znacznym spadkiem mleczności. Siewcami wirusa są zwierzęta chore oraz zwierzęta zakażone trwale (PI). Największe zagrożenie stanowią osobniki PI, które przez całe swoje życie wydalają wirus w dużych ilościach we wszystkich wydalinach i wydzielinach. W przypadku ostrego zakażenia, które najczęściej przebiega bezobjawowo, miano wydalanego wirusa jest niskie, ale zwierzęta takie również stanowią zagrożenie, szczególnie dla zwierząt młodych i krów cielných.

**Cel pracy:** Zastosowanie testu real-time RT-PCR do diagnostyki molekularnej zakażeń bydła wirusem BVD-MD w celu identyfikacji zwierząt zakażonych trwale.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki surowicy krwi pozyskane od zwierząt hodowlanych z terenu Polski. Jako kontroli dodatniej testu używano izolatów wirusa namnożonych w hodowli komórek bydłeczej małżowiny nosowej (BT) w środowisku wolnym od zanieczyszczeń wirusem BVD-MD.

Do określenia czułości testu real-time RT-PCR użyto standardów RNA wirusów BVD-MD typu 1 i 2 oraz atypowego pestiwirusa bydłeczego, które uzyskano po wklonowaniu fragmentu ich genomu do plazmidu bakteryjnego, namnożeniu w *E. coli*, oczyszczeniu i transkrypcji *in vitro* do RNA. Zastosowane standardy pozwoliły na opracowanie ilościowej metody oznaczania wirusowego RNA. Specyficzność metody badano przy użyciu próbek ujemnych oraz innych wirusów bydłeczych.

Test real-time RT-PCR przeprowadzono ze starterami i sondami TaqMan pozwalającymi na różnicowanie typów wirusa BVD-MD [Baxi i wsp., 2006; Liu i wsp., 2008].

**Wyniki i omówienie:** Badanie real-time RT-PCR z zastosowaniem sond TaqMan pozwala na ocenę jakościową i ilościową zawartości wirusa BVD-MD w badanej próbce oraz na wykrycie zarówno ostrego, jak i trwałego zakażenia. Test wykrywa trzy genotypy wirusa: BVDV-1, BVDV-2 i atypowy pestivirus bydłeczy (BVDV-3). Metoda cechuje się wysoką powtarzalnością, czułością oraz specyficznością w wykrywaniu materiału genetycznego wirusa z różnorodnego materiału badanego. Dokładna i wczesna diagnostyka pozwala na wczesne wykrycie oraz zatrzymanie szerzenia się wirusa BVD-MD w pogłowie bydła, a tym samym jest podstawą skutecznych programów zwalczania zakażeń.



## WPROWADZENIE TESTU REAL-TIME RT-PCR DO WYKRYWANIA WIRUSA SCHMALLEMBERG

### INTRODUCTION OF REAL-TIME RT-PCR FOR DETECTION OF SCHMALLEMBERG VIRUS

Magdalena Larska, Mirosław Paweł Polak, Jan Franciszek Żmudziński

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Wirusologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: m.larska@piwet.pulawy.pl

Wirus Schmallenberg należy do rodziny Bunyviridae, rodzaju Orthobunyavirus, serogrupy Simbu. Nazwa wirusa pochodzi od niemieckiej miejscowości w Nadrenii Północnej – Westfalii, w której wirus po raz pierwszy został zidentyfikowany w Europie. Wirusy z tej grupy występują głównie w Azji, Australii i Oceanii oraz w Afryce. Genom wirusa jest jednoniciowym ujemnie spolaryzowanym RNA. Od końca 2010 r. obecność wirusów spokrewnionych z wirusem Schmallenberg stwierdzono w Niemczech, Holandii, Belgii, Wielkiej Brytanii, Francji, we Włoszech, Hiszpanii i Luksemburgu [Gibbens, 2012]. Gatunkami wrażliwymi na zakażenie są bydło, owce, kozy, a obecność wirusa notowano także u żubra. Do transmisji dochodzi za pośrednictwem wektorów (prawdopodobnie kuczmanów *Culicoides* i komarów *Culicidae*); jednak nie można wykluczyć bezpośredniej transmisji pomiędzy zwierzętami. Objawy u owiec i kóz to rodzenie się martwych lub słabo żywotnych jagniąt i kozłąt, z obecnością wad wrodzonych (wodogłowie z hipoplazją mózgu, wrodzona sztywność stawów) [van den Brom i wsp., 2012]. U bydła najczęściej obserwuje się gorączkę, spadek mleczności, biegunkę, sporadycznie zdarzają się poronienia.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki: narządów od padłego bydła i małych przeżuwaczy lub poronionych płodów, surowicy krwi oraz kuczmanów *C. obsoletus*, *punctatus* i *chiropterus* z Polski. Zastosowano technikę real-time RT-PCR do wykrywania genomu wirusa Schmallenberg opisaną w procedurze Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) w Niemczech [Hoffmann i wsp., 2012]. Test opierał się na podwójnej (duplex) amplifikacji fragmentu odcinka genu segmentu S lub L wirusa Schmallenberg oraz fragmentu genu metabolizmu podstawowego (housekeeping gene) takich białek jak beta-aktyna (b-ACT) lub białka wzmocnionej zielonej fluorescencji (ang. enhanced green fluorescent protein – EGFP), które stanowiły kontrole wewnętrzne (IC) testu. Materiałem odniesienia było RNA wirusa Schmallenberg wyizolowane z przypadków zakażeń w Niemczech.

**Wyniki i omówienie:** Wszystkie przebadane próbki dały wyniki ujemne w teście real-time RT-PCR. Zastosowana metoda charakteryzowała się wysoką czułością i specyficznością w wykrywaniu RNA wirusa Schmallenberg. Badania będą kontynuowane ze względu na zagrożenie transmisji wirusa Schmallenberg na teren Polski.





## ROLA INTERFERONU I RECEPTORÓW TOLL W ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ NA ZAKAŻENIE PESTIWIRUSOWE

### THE ROLE OF INTERFERON AND TOLL RECEPTORS IN RESPONSE TO PESTIVIRAL INFECTION

Magdalena Larska<sup>1</sup>, Mirosław Paweł Polak<sup>1</sup>, Victor Riitho<sup>2</sup>, Graham Simon<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Wirusologii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: m.larska@piwet.pulawy.pl

<sup>2</sup>Virology Department, Animal Health & Veterinary Laboratories Agency (AHVLA), Weybridge, New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB, UK, Wielka Brytania

Po zakażeniu organizmu czynnikiem zakaźnym jest on rozpoznawany przez odpowiednie receptory, tj. receptory Toll (z ang. TLR – Toll like receptors), które następnie aktywują odpowiedź immunologiczną, w pierwszej kolejności tę wrodzoną, a następnie nabytą. Receptory, tj. TLR3, TLR7/8 czy TLR9 najczęściej biorą udział w wiązaniu wirusowego RNA lub DNA – następową aktywacją syntezy interferonu typu I (interferon (IRF)  $\alpha$  i  $\beta$ ) i typu II (IRF  $\gamma$ ). Pestiwirusy bydłce są szeroko rozpowszechnione. Mimo że większość zakażeń przebiega subklinicznie, zakażenia te powodują znaczny spadek odporności u bydła, co prowadzi do zakażeń wtórnych, często z ciężkim przebiegiem. Celem badań było określenie roli TLR i interferonu w odpowiedzi immunologicznej u cieląt zakażonych dwoma różnymi pestiwirusami o różnej patogenności.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły surowica i leukocyty izolowane od cieląt eksperymentalnie zakażonych szczepem azjatyckim Th/04\_KhonKaen atypowego pestiwirusa oraz szczepem Horton 916 wirusa BVD-MD typu 1 [Larska i wsp., 2012]. Poziom interferonu mierzono za pomocą testu ELISA bezpośrednio w surowicy zwierząt. Ekspresję receptorów Toll i białek biorących udział w kaskadzie aktywującej interferony badano na poziomie transkryptomu przy użyciu real-time RT-PCR z użyciem SYBR Green i odpowiednich sond. Badano kilka genów, w tym: TLR3, TLR7, IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IFN $\gamma$ , gen regulujący interferon IRF3, gen białka Mx i czynnika martwicy nowotworu (TNF $\alpha$ ) oraz geny indukowane przez interferon: ISG15 i OAS1. Jako genów referencyjnych użyto  $\beta$ -aktyny i GAPDH. Do oceny ekspresji genów badanych użyto metody  $\Delta\Delta C_t$ .

**Wyniki i omówienie:** Poziom interferonu typu I w surowicy cieląt był znacznie podwyższony między 2. a 7. dniem po zakażeniu obydwoma pestiwirusami w porównaniu z cielętami kontrolnymi. Było to skorelowane z wiremiami oraz ze zwiększoną ekspresją genu IFN $\alpha$  i IFN $\beta$  oraz genów receptorów TLR3 i TLR7. U zakażonych cieląt stwierdzono również aktywację genu białka Mx, 7. dnia po inokulacji, a w 14. i 21. dniu po zakażeniu zanotowano zwiększoną ekspresję mRNA kodującego IRF3 i ISG15 w porównaniu ze zwierzętami zdrowymi. Aktywacja genu OAS1 była dwufazowa: pomiędzy 2. i 5. dniem i następnie 14. dnia po zakażeniu. Aktywację genów IFN $\gamma$  i TNF $\alpha$  obserwowano później, w czwartym tygodniu od zakażenia. Wyniki te wskazują, że receptory Toll oraz interferon odgrywają rolę w odpowiedzi na zakażenie pestiwirusami. Kinetyka aktywacji odpowiedzi na zakażenie dwoma różnymi pestiwirusami była podobna, co sugeruje podobną patogenność zakażenia.



## OCENA TESTÓW DIAGNOSTYCZNYCH DO WYKRYWANIA PRZECIWCIAŁ DLA ATYPOWYCH PESTIWIRUSÓW BYDLĘCYCH

### EVALUATION OF DIAGNOSTIC ASSAYS FOR DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST ATYPICAL BOVINE PESTIVIRUSES

Magdalena Larska<sup>1</sup>, Mirosław Paweł Polak<sup>1</sup>, Åsse Uttenthal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Wirusologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: m.larska@piwet.pulawy.pl

<sup>2</sup>National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Lindholm, 4771 Kalvehave, Denmark

Atypowe pestiwirusy bydlęce spokrewnione z wirusem Hobi (z ang. Hobi-like) to grupa wirusów należących z wirusem biegunki bydła i choroby błon śluzowych (BVD-MD), wirusem choroby granicznej owiec (BDV) oraz wirusem klasycznego pomoru świń (CSFV) do rodzaju *Pestivirus* z rodziny *Flaviviridae*. Pierwszym atypowym wirusem wykrytym w płodowej surowicy bydlęcej (FBS) wyprodukowanej w Brazylii był wirus Hobi [Schirrmeier i wsp., 2004], później podobne wirusy wykryto jako kontaminujące inne FBS, a następnie jego obecność potwierdzono również u bydła i bawołów z Ameryki Południowej i Azji. W ostatnich paru latach stwierdzono transmisję atypowych pestiwirusów do Europy. Zakażenia objawiały się zakażeniami układu oddechowego przebiegającymi z upadkami śmiertelnymi u cieląt oraz z poronieniami u krów we włoskich stadach. Podejrzewa się, że źródłem zakażeń mogły być szczepionki przeciw IBR zanieczyszczone atypowym pestiwirusem. Zróżnicowanie genetyczne nowych pestiwirusów dyktuje potrzebę opracowania metod diagnostyki tych zakażeń. Ocenie poddano testy ELISA używane do rutynowej diagnostyki BVD-MD oraz test MIA (z ang. microsphere-based immunoassay) oparty na mikrokulkach opłaszczonych rekombinowanym białkiem wirusowym.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki surowicy krwi od cieląt eksperymentalnie zakażonych szczepem azjatyckim Th/04\_KhonKaen atypowego pestiwirusa oraz szczepem Horton 916 wirusa BVD-MD typu 1 [Larska i wsp., 2012]. Jako metody do wykrywania przeciwciał użyto czterech komercyjnych testów ELISA w formacie blokującym i bezpośrednim oraz nowo opracowanego testu MIA. Do przeprowadzenia testu MIA użyto kulek opłaszczonych rekombinowanym białkiem E<sup>ms</sup> atypowego pestiwirusa Th/04\_KhonKaen. Wiązanie się przeciwciał surowicy z antygenem wykrywane było przy zastosowaniu biotyntynylowanych przeciwciał anti-bydlęcych dla IgG i koniugatu znakowanego streptawidyną i fikoerytryną. Odczytu dokonywano w analizatorze Luminex 200. Metodą referencyjną („złotym standardem”) był test neutralizacji wirusa (VNT) z użyciem wirusów homologicznych. Na podstawie porównania wyników badanych testów z VNT określano czułość, specyficzność oraz szybkość wykrywania specyficznych przeciwciał po zakażeniu wirusem.

**Wyniki i omówienie:** Wszystkie zakażone cielęta wytworzyły specyficzne dla wirusów przeciwciała 14. dnia po zakażeniu, co potwierdził test VNT. Podobne wyniki uzyskano w dwóch testach ELISA i MIA, jednak część testów wykrywała przeciwciała dopiero w 21. i 28. dniu po zakażeniu. Czułość części testów była wysoka i sięgała 100% (dla MIA), podczas gdy jeden z testów ELISA wykrył jedynie 25% dodatnich próbek. Specyficzność wszystkich testów była wysoka i wahała się pomiędzy 82 a 100%. Analiza krzywych ROC pokazała, że obniżenie rekomendowanych wartości odcięcia do wykrywania przeciwciał przeciw wirusowi BVD-MD pozwoliłoby na poprawę czułości tych metod do wykrywania przeciwciał dla atypowych pestiwirusów bydlęcych.



## BADANIA NAD ODZIAŁYWANIEM NIĘKÓRTCH OBSZARÓW DOBROSTANU NA WZROST WYDAJNOŚCI KRÓW MLECZNYCH

### RESEARCH ON CERTAIN AREAS OF THE WELFARE EFFECTS ON THE GROWTH PERFORMANCE OF DAIRY COWS

Henryk Maciołek

Uniwersytet im. J. Kochanowskiego w Kielcach, filia w Piotrkowie Trybunalskim

Dobrostan najczęściej kojarzony był z wymaganiami dotyczącymi standardów utrzymania zwierząt gospodarskich. Warunki utrzymywania zwierząt wysokoprodukcyjnych są terminem, który powstał wraz z wprowadzeniem chowu i hodowli zwierząt na poziomie produkcji towarowej.

**Cel pracy – analiza wymagań:** Wymagania etologiczne utrzymania zwierząt są uwarunkowane ich właściwościami anatomiczno-fizjologicznymi, które określono w formie kilku wielkości:

- 1) wolne od niedożywienia,
- 2) wolne od termicznego i fizycznego dyskomfortu,
- 3) wolne od strachu i stresu,
- 4) wolne od chorób i zranień,
- 5) wolne do naturalnych zachowań behawioralnych.

**Materiał i metody:** Materiał do badań wpływu obszarów dobrostanu na wydajność krów mlecznych stanowiło 5 gospodarstw liczących 19, 27, 42, 60, 40 krów dojnych rasy HF utrzymywanych w oborach uwięziowych płytkich, wyposażonych w urządzenia dojarские – mechaniczny dój, prawidłowe żywienie, pojenie, usuwanie obornika, wentylację itp.

Badaniami objęto:

- 1) mikroklimat środowiska,
- 2) wentylację pomieszczeń inwentarskich,
- 3) ściółkowanie systematyczne, stosując ciętą słomę żytnią,
- 4) gęstość obsady zwierząt produkcyjnych (krowy dojne),
- 5) przestrzeganie warunków sanitarnych w pomieszczeniach oborowych krów mlecznych,
- 6) zachowanie społeczne krów,
- 7) pokarm i woda odpowiedniej jakości,
- 8) warunki techniczne pomieszczenia oborowego.

**Wyniki i omówienie:** Badanie pogłównia w liczbie rasy HF 188 krów w 5 gospodarstwach i modelach doświadczalnych przy uwzględnieniu wymienionych obszarów dobrostanu, które w metodzie wykazano, udowodniło że dobrostan zwierząt, w tym krów mlecznych, odgrywa ważny element biologiczno-ekonomiczny, oddziałujący na wzrost produkcji mlecznej. Z przeprowadzonych badań z 2006 r. wynika, że do najbardziej korzystnych obszarów oddziaływania dobrostanu zaliczyć należy takie jak:

- 1) prawidłowe i racjonalne żywienie i pojenie krów, które przyczynia się do zwiększenia efektów produkcyjnych mleka w cyklu rocznym o 66,80%;
- 2) odpowiednią wentylację pomieszczeń inwentarskich, która zwiększa produkcję mleka o 61,79%;
- 3) racjonalne przemieszczanie się i dowolny odpoczynek zwierząt zwiększa produkcję mleka o 37,88%;
- 4) odpowiednie ściółkowanie (pociętą słomą żytnią) pomieszczeń inwentarskich zwiększa wydajność mleka o 32,28%;
- 5) zachowania społeczne zwierząt zwiększają opłacalność produkcji mleka o 15,75%.

Podsumowując należy podkreślić, że badane obszary dobrostanu ujęte w założeniach biologiczno-ekonomicznych jakości dobrostanu i behawioru, w tym odnoszące się do krów mlecznych, są bardzo korzystne do wzrostu rachunku ekonomicznego oraz zdrowia zwierząt.



## AKTYWNOŚĆ GRANULOCYTÓW U KRÓW Z KWASICĄ ODDECHOWĄ NIEWYRÓWNANĄ W OKRESIE PRZEDPORODOWYM

### THE ACTIVITY OF GRANULOCYTES IN COWS WITH RESPIRATORY UNCOMPENSATED ACIDOSIS IN PREPARTUM PERIOD

Hanna Markiewicz, Wiesław Krumrych, Wiesław Niewitecki, Edward Malinowski

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Bydgoszczy, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, e-mail: vetri@logonet.com.pl

Wpływ kwasicy metabolicznej na obniżenie aktywności fagocytarnej granulocytów obojętnochłonnych, zmniejszoną ich chemotaksję i aktywność bakteriobójczą wykazano wielokrotnie. Konsekwencją zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej (rk-z) są stany zapalne gruczołu mlekowego i macicy, narządów których zdrowotność uwarunkowana jest głównie odpornością komórkową.

**Cel badań:** Ocena wpływu nieskompensowanej kwasicy oddechowej na aktywność wolnorodnikową komórek polimorfonuklearnych (PMN) u krów przed porodem.

**Material i metody:** Badania przeprowadzono na wysoko wydajnych krowach, o średniej wydajności 11 400 kg mleka za 305 dni laktacji. Krew do badań pobierano dwukrotnie, w okresie 14–10 dni przed porodem. Oznaczono parametry równowagi kwasowo-zasadowej krwi przy użyciu aparatu Chiron 248, całkowity status antyoksydacyjny osocza – TAS (Randox Laboratories Ltd., UK, nr kat. NX 2332) oraz oceniono aktywność metaboliczną granulocytów na podstawie pomiaru chemiluminescencji spontanicznej (BS) i stymulowanej opsonizowanym zymosanem (OZ) i octanem mirystynianuforbolu (PMA). Badania dotyczące wpływu pH na aktywność komórek PMN prowadzone są głównie *in vitro* na komórkach izolowanych. Prezentowane badania wykonano we krwi pełnej, co pozwala uniknąć aktywacji komórek podczas izolacji.

**Wyniki i omówienie:** Wykazano, że nieskompensowana kwasica oddechowa w okresie przedporodowym wpływa na obniżenie poziomu chemiluminescencji spontanicznej o 58,3% w porównaniu z krowami zdrowymi. Widoczny był wzrost CL stymulowanej OZ w obu grupach, przy braku odpowiedzi na stymulację PMA w grupie krów z zaburzoną równowagą kwasowo-zasadową. Nie odnotowano różnic dotyczących całkowitego statusu antyoksydacyjnego u krów chorych i zdrowych. Niewyrównana kwasica oddechowa w okresie przedporodowym wpłynęła na obniżenie metabolizmu tlenowego granulocytów obojętnochłonnych. Droga receptorowa aktywacji była sprawna w obu grupach zwierząt, natomiast brak było pobudzenia neutrofilii po stymulacji drogą pozareceptorową w grupie krów z zaburzoną równowagą kwasowo-zasadową.

Tabela 1. Wybrane parametry równowagi kwasowo-zasadowej krwi z naczyń ogona u krów w okresie przedporodowym (średnia z dwóch pobrań ± odchylenie standardowe)

Zwierzęta	pH	pCO <sub>2</sub> , mm Hg	HCO <sub>3</sub> , mmol/l	BE mmol/l
zdrowe n=7	7,369±0,033*	45,33±8,419*	25,61±4,78	-0,043±4,026
kwasica n=6	7,285±0,031	55,37±4,731	25,83±3,02	-1,817±2,913

Tabela 2. Wartości CL spontanicznej i stymulowanej komórek PMN u krów z nieskompensowaną kwasimą oddechową (średnia z dwóch pobrań ± odchylenie standardowe)

Zwierzęta	BS	OZ	PMA
zdrowe n=7	2,793±1,858	4,081±2,448	3,231±2,708
kwasica n=6	1,165±1,049	3,927±1,086	1,173±0,674



## WYSTĘPOWANIE PRZECIWCIAŁ SPECYFICZNYCH DLA BYDŁĘCEGO SPUMAWIRUSA (BFV) W SUROWICY KRWI LUDZI I DZIKICH PRZEŻUWACZY – BADANIE NOWYCH REZERWUARÓW SPUMAWIRUSÓW

### OCCURENCE OF BOVINE FOAMY VIRUS (BFV) SPECIFIC ANTIBODIES IN SERA OF HUMANS AND WILD RUMINANTS – IDENTIFICATION OF NEW RESERVOIRS FOR FOAMY VIRUSES

Magdalena Materniak, Jacek Kuźmak

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Biochemii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: magdalena.materniak@piwet.pulawy.pl

Spumawirusy należą do najsłabiej poznanych renowirusów, które zakażają wiele gatunków zwierząt, w tym naczelne, konie, koty i bydło. Wzrost zainteresowania spumawirusami w ostatnich latach wynika z udowodnienia ich zoonotycznego potencjału. Jak wielokrotnie wykazano, spumawirusy małą mogą zakażać ludzi, do czego dochodzi najczęściej poprzez ugryzienie lub kontakt z krwią i mięsem zakażonego zwierzęcia. Biorąc pod uwagę zdolność spumawirusów małą do pokonywania bariery międzygatunkowej oraz duże podobieństwo pomiędzy różnymi gatunkami spumawirusów, zasadne jest badanie potencjału zoonotycznego spumawirusów zakażających zwierzęta gospodarskie. Jednym z nich jest spumawirus bydła (*Bovine foamy virus* – BFV), który jest szeroko rozprzestrzeniony w populacji bydła. W Polsce zakażenia BFV dotyczą średnio 30% bydła, które może stanowić źródło zakażeń międzygatunkowych, szczególnie w odniesieniu do ludzi stykających się z jego śliną czy krwią oraz dla dzikich przeżuwaczy, z którymi bydło może się stykać w trakcie wypasania. Nie jest również wykluczone, że oprócz znanych już gospodarzy istnieją inne, niezidentyfikowane dotąd, rezerwuary spumawirusów, których można poszukiwać wśród dzikich zwierząt.

**Cel badań:** Określenie występowania przeciwciał specyficznych dla BFV u ludzi i dzikich przeżuwaczy.

**Materiał i metody:** Ogółem zbadano 357 próbek osocza ludzi z wybranych grup ryzyka, czyli osób zawodowo stykających się z bydłem zakażonym BFV (lekarze weterynarii, pracownicy obsługi) i osób zamieszkujących tereny wiejskie mogących mieć styczność z zakażonym bydłem. Uwzględniono również grupę kontrolną. Zbadano także 260 próbek surowicy krwi pochodzących od dzikich przeżuwaczy (żubry, jelenie, sarny i daniela). Do wykrywania przeciwciał specyficznych dla BFV użyto testu GST-ELISA, w którym wykorzystano dwa rekombinowane antygeny wirusowe: Gag i Bet. Wszystkie próbki surowicy, które wykazały podwyższoną reaktywność w teście ELISA, badano testem potwierdzającym – western blotting z antygenem komórkowym BFV. Dodatkowo, próbki DNA odpowiadające surowicom o podwyższonej reaktywności badano testem semi-nested PCR w celu detekcji wirusowego DNA.

**Wyniki i omówienie:** Spośród badanych próbek osocza ludzi 22 wykazały podwyższoną reaktywność dla antygenów Gag i Bet, ale reaktywność tylko jednej z nich została potwierdzona w teście immunoblotting. Natomiast w teście semi-nested PCR nie otrzymano wyników dodatnich. Spośród próbek surowicy krwi dzikich przeżuwaczy 12 wykazało podwyższoną reaktywność dla obu antygenów BFV, z czego w przypadku 5 próbek wynik potwierdzono testem immunoblotting. Dodatkowo jedna próbka DNA izolowana od jelenia była dodatnia w teście semi-nested PCR, co potwierdzono poprzez sekwencjonowanie amplifikowanego fragmentu DNA. Reaktywność próbek ludzkiego osocza skierowana przeciw antygenom BFV może wskazywać na kontakt badanych osób z zakażonym zwierzęciem, jednak ze względu na ujemny wynik amplifikacji nie można potwierdzić transmisji wirusa z bydła do organizmu człowieka. Natomiast reaktywność próbek surowicy krwi dzikich przeżuwaczy skierowana przeciw antygenom BFV oraz możliwość amplifikacji DNA spumawirusa mogą wskazywać na istnienie nowych rezerwuarów tych wirusów.





## ZABURZENIA METABOLICZNE U KÓZ W OKRESIE POPORODOWYM

### METABOLIC DISORDERS OF GOATS IN POSTPARTUM PERIOD

Józef Nicpoń<sup>1</sup>, Vasyl Vlizlo<sup>2</sup>, Igor Maksymovych<sup>3</sup>, Krzysztof Kubiak<sup>1</sup>, Marcin Jankowski<sup>1</sup>,  
Jolanta Spużak<sup>1</sup>, Kamila Glińska-Suchocka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów

<sup>2</sup>Lwowski Narodowy Uniwersytet Medycyny Weterynaryjnej i Biotechnologii, Katedra Chorób Wewnętrznych

<sup>3</sup>Lwowski Narodowy Uniwersytet Medycyny Weterynaryjnej i Biotechnologii, Katedra Diagnostyki Klinicznej, e-mail: maksym\_vet@ukr.net

Intensywność metabolizmu u kóz w okresie laktacji jest dosyć wysoka. Wymaga to odpowiedniego karmienia zwierząt, gdyż nawet niewielkie błędy żywieniowe prowadzić mogą do rozwoju zaburzeń metabolicznych. Pojawienie się u kóz zaburzeń metabolicznych powoduje spadek ich produktywności, brakowanie zwierząt, zwiększenie nakładów na leczenie, a nawet ich upadki.

**Cel pracy:** Wykrycie podklinicznych zaburzeń metabolicznych u kóz mlecznych w okresie 30 dni przed i 30 po porodzie na podstawie analizy porównawczej wybranych parametrów krwi.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono u 20 kóz w okresie 30 dni przed porodem (gr. I) i 35 kóz w okresie 30 dni po przedzie (gr. II). W badaniu biochemicznym krwi uwzględniono następujące parametry: białko całkowite, albuminy, mocznik, kreatynina, bilirubina całkowita, glukoza, GOT, GPT, GGT, ALP, Ca, Pn, Na, RKZ, wit. A i E.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że stężenie albumin w surowicy krwi kóz w ostatnim miesiącu ciąży i kóz w okresie intensywnej laktacji było niższe od wartości referencyjnych i wynosiło śr.  $27,3 \pm 0,82$  i  $28,0 \pm 0,53$  g/l. U 70% kóz w ostatnim miesiącu ciąży i 61% kóz w okresie laktacji wykazano spadek stężenia mocznika śr. do  $2,9 \pm 0,24$  i  $3,3 \pm 0,22$  mmol/l. U 38% kóz z gr. I i 53% z gr. II stwierdzono wzrost stężenia bilirubiny całkowitej. Aktywność GOT u kóz w gr. I wynosiła śr.  $70,3 \pm 2,80$  U/l, natomiast u kóz z gr. II – śr.  $83,3 \pm 3,01$  U/l ( $p < 0,01$ ). Aktywność GGT była istotnie statystycznie wyższa ( $p < 0,05$ ) w surowicy krwi kóz w okresie laktacji (śr.  $45,3 \pm 2,05$  U/l) niż u kóz przed porodem (śr.  $38,4 \pm 1,94$  U/l), a aktywność ALP wynosiła śr.  $165,7 \pm 36,33$  U/l u kóz z gr. I i śr.  $255,6 \pm 40,81$  U/l u kóz z gr. II. Zmniejszenie stężenia albumin oraz mocznika i zwiększenie stężenia bilirubiny całkowitej oraz aktywności GOT, GGT i ALP u kóz z gr. I i II wskazuje na zaburzenia funkcjonowania wątroby i uszkodzenie hepatocytów [Kurek i wsp. 2010, Belawy 2000]. Zawartość  $Ca^{++}$  w surowicy krwi kóz w gr. I wynosiła śr.  $2,05 \pm 0,055$  mmol/l i u 77% zwierząt była poniżej normy fizjologicznej, natomiast zawartość wapnia u kóz na początku laktacji wyniosła śr.  $2,14 \pm 0,059$  mmol/l i była nieznacznie wyższa w porównaniu z kozami w ostatnim miesiącu ciąży, przy czym spadek odnotowano u 63% zwierząt. Obniżone stężenie Pn stwierdzono u 63,6% kóz z gr. I i 51,1% kóz z gr. II, a obniżone stężenie  $Na^+$  wykazano u 55% kóz z gr. II. Zawartość wit. A w surowicy krwi kóz z gr. I wynosiła śr.  $24,6 \pm 1,65$  ng/dl, a u kóz z gr. II śr.  $23,3 \pm 1,71$  ng/dl. Niski poziom wit. A u kóz wysokokotnych oraz w okresie laktacji był związany ze zwiększonym uwalnianiem retinolu w siarze [Kurek i wsp. 2010, Belawy 2000]. Z kolei poziom wit. E u kóz w gr. I wynosił śr.  $488,2 \pm 62,22$  ng/dl, a u kóz w gr. II śr.  $356,5 \pm 61,28$ . W badaniu RKZ kóz stwierdzono, że u kóz w gr. I pH wynosiło śr.  $7,411 \pm 0,0046$ , a u kóz w gr. II spadło do śr.  $7,389 \pm 0,0061$  ( $p < 0,05$ ). U kóz w gr. I, a zwłaszcza u kóz w gr. II, stwierdzono spadek wartości  $BE_b$  i  $BE_{ecf}$ . Najczęstszymi zaburzeniami metabolicznymi u kóz w okresie poporodowym są: hipokalcemia, hipofosfatemia, hiponatrenia, zwiększenie aktywności ALP i zmniejszenie zawartości wit. A.



## OTRZYMYWANIE REKOMBINOWANYCH BIAŁEK KAPSYDU I GLIKOPROTEINY SU1 I SU5 LENTIWIRUSÓW MAŁYCH PRZEŻUWACZY I UŻYCIE ICH JAKO ANTYGENU W TEŚCIE ELISA

### CONSTRUCTION OF RECOMBINANT CAPSYD AND GLIKOPROTEINS SU1/SU5 PROTEINS OF SMALL RUMINANT LENTIVIRUSES AND USE THEM AS ANTIGEN IN ELISA TEST

Monika Olech, Jacek Kuźmak

Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Biochemii, Al. Partyzantów 57,  
24-100, Puławy, e-mail:monika.olech@piwet.pulawy.pl

Według obowiązującej klasyfikacji lentiwirusy małych przeżuwaczy (SRLV) stanowią odrębną grupę w obrębie rodzaju *Lentivirus*, rodziny *Retroviridae*, która uwzględnia wirus choroby maedi visna owiec (VMV) i wirus zapalenia stawów i mózgu kóz (CAEV). Wśród SRLV wyróżnia się grupy genetyczne A, B, C, D i E oraz szereg podtypów jak A1-A13 i B1-B3. Ponieważ jak do tej pory nieznana jest profilaktyka swoista, a zakażone zwierzęta są nosicielami wirusa przez całe życie, jako sposób walki z chorobą poleca się programy uzdrawiania stad, polegające na badaniu serologicznym zwierząt i eliminowaniu z hodowli seroreagentów. Najczęściej w tym celu stosuje się testy typu ELISA wykorzystujące białka kapsydu wirusa, jako antygeny, przygotowane na bazie znanego szczepu K1514 MVV. Jednak efektywność takich testów ograniczona jest faktem występowania zakażeń powodowanych przez warianty wirusów indukujących syntezę przeciwciał o zmienionym powinowactwie z białkami antygenowymi izolatu K1514. Zwykle powstają one jako wynik istnienia zmienności genetycznej wirusów RNA. Źródłem powstawania nowych wariantów mogą być także zakażenia międzygatunkowe (*cross-species infections*) pomiędzy owcami i kozami. Celem badań było otrzymanie rekombinowanych białek SU1/Gag/SU5 oraz SU1/SU5 typowych dla grupy genetycznej A i B oraz użycie ich jako antygeny w teście ELISA.

**Materiał i metody:** Fragmenty genu *gag* długości 990 pz i genu *env* długości 250 pz i 150 pz, kodujące odpowiednio białko kapsydu (CA) i częściowo macierzy (MA) oraz domenę SU1 i SU5 zostały zamplifikowane przy użyciu metody nested PCR na bazie klonów reprezentujących różne podgrupy genetyczne. Klonowanie w wektorze ekspresyjnym przeprowadzono w trzech etapach: najpierw wklonowano fragment *gag* przy użyciu gotowych adapterów, następnie subklonowano fragment SU1 opierając się na starterach z miejscami restrykcyjnymi dla Stu1/Sal1 oraz subklonowano fragment SU5 opierając się na starterach z miejscami dla endonukleaz HindIII i Not1. Następnie rekombinowane plazmidy poddano sekwencjonowaniu, w celu potwierdzenia prawidłowej orientacji insertów. Nadprodukcję rekombinowanych białek uzyskano w hodowli komórek *E. coli*. Następnie białka oczyszczono metodą chromatografii metalopowinowactwa. Na bazie uzyskanych rekombinowanych białek opracowano test ELISA wykorzystujący pośrednią metodę wykrywania przeciwciał.

**Wyniki i omówienie:** 70 surowic owczych pochodzących ze stad zakażonych znanym podtypem SRLV, zbadano testem ELISA, używając antygeny SU1/Gag/SU5 oraz SU1/SU5 reprezentujących grupę A i B. Stosując antygen SU1/SU5, reaktywność serologiczna była ograniczona do zakażonego stada z odpowiednim szczepem wirusa, co świadczy o tym, że antygeny SU, a zwłaszcza antygen SU5, indukuje rodzaj typowo specyficznej odpowiedzi immunologicznej. Stosując antygen SU1/Gag/SU5 reprezentujący podgrupę A13, pozytywną reaktywność można było zaobserwować z surowicami pochodzącymi ze stad zakażonych wirusem należącym do podgrupy A13, A1 i A12. Nie zaobserwowano natomiast pozytywnej reakcji, badając surowice ze stad zakażonych wirusem należącym do podgrupy B2. Odwrotny wynik otrzymaliśmy, wykorzystując w teście ELISA antygen SU1/Gag/SU5 reprezentujący podgrupę B2. Pozytywną reaktywność zaobserwowano jedynie z surowicami pochodzącymi ze stad zakażonych wirusem B2. Wyniki te wskazują na fakt, że istnieje immunologiczne pokrewieństwo między epitopami białka macierzy i kapsydu wśród danej grupy genetycznej SRLV oraz istnieje konieczność skonstruowania testów ELISA wykorzystujących jako antygen kompleks białek rekombinowanych uzyskanych na bazie różnych grup genetycznych SRLV.



## ZMIANY W MIKROARCHITEKTURZE NASAD KOŚCI DŁUGICH I CHRZĄSTKI SZKLISTEJ STAWOWEJ W PRZEBIEGU OSTEOPOROZY U OWIEC

### CHANGES IN THE MICROARCHITECTURE OF EPIPHYSIS OF LONG BONES AND THE ARTICULAR HYALINE CARTILAGE IN THE COURSE OF OSTEOPOROSIS IN SHEEP

Anita Piątek, Zdzisław Kiełbowicz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii,  
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: nitkaxx@interia.pl

Osteoporoza jest niejednorodnym schorzeniem, którego istotą jest postępujący ubytek masy kostnej i dezorganizacja mikroarchitektury szkieletu kostnego, czego konsekwencją mogą być złamania kości.

**Cel badań:** Poznanie osteoporotycznej struktury nasad kości długich i ich powierzchni stawowych, wybranie najskuteczniejszych metod diagnozowania schorzenia, obserwacja postępujących zmian osteoporotycznych na podstawie oznaczania markerów obrotu kostnego oraz zmian w obrazie histologicznym i ultrastrukturalnym kości.

**Materiał i metody:** Ze względu na fakt, iż osteoporoza nie występuje w warunkach naturalnych u zwierząt, u owiec musiała ona zostać indukowana.

Badanie przeprowadzono na 35 owcach rasy merynos, które zostały podzielone na 3 grupy badawcze. Pierwszą grupę stanowiło 25 owiec, u których została wywołana osteoporoza poprzez zastosowanie diety ubogiej w białko i składniki mineralne, ograniczony ruch i dostęp do światła słonecznego, owariektomię oraz podawanie leków z grupy glikokortykosterydowej. Drugą grupę stanowiło 5 owiec (próby pozytywne), u których zastosowano dietę ubogą w białko i składniki mineralne, ograniczony ruch i dostęp do światła słonecznego, owariektomię. Trzecia grupa 5 owiec (grupa negatywna) stanowiła grupę kontrolną. Przed przystąpieniem do badania oraz na zakończenie doświadczenia wszystkie zwierzęta zostały zważone, pobrano od nich krew do badań morfologicznych, biochemicznych, hormonalnych, markerów obrotu kostnego, ponadto wykonano badanie radiologiczne kończyn miednicznych oraz pobrano do badań pQCT, a do badań histopatologicznych słupek kostne z lewego (początek doświadczenia) i prawego (koniec doświadczenia) talerza biodrowego. W grupie pierwszej glikokortykosteroidy były podawane co 20 dni czterokrotnie w dawce 150 mg/owce. Podawanie rozpoczęto miesiąc po zabiegu owariektomii. Eutanazja została wykonana po miesiącu czasu od zakończenia podawania glikokortykosteroidów. Od zwierząt pobrano kości kończyn piersiowych i miednicznych oraz miednicę do badań wytrzymałościowych kości i ich powierzchni stawowych. Dodatkowym badaniem było badanie artroskopowe zdrowego stawu kolanowego owcy oraz owcy po wywołaniu osteoporozy.

**Wyniki i omówienie:** Wstępne wyniki wykazały u owiec w grupie pierwszej uzyskanie osteoporozy na poziomie 30%, czyli takim jaki występuje u ludzi. Analiza pQCT słupeków kostnych wykazała zmniejszenie gęstości kości i zmiany w ich mikroarchitekturze.



## ZASTOSOWANIE WYBRANYCH ANTYBIOTYKÓW W LECZENIU MASTITIS MYCOTICA U KRÓW

### USE OF CHOSEN ANTIBIOTICS IN THE TREATMENT OF MYCOTIC MASTITIS IN COWS

Tomasz Piech, Władysław Wawron, Piotr Brodzki, Mariola Bochniarz

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: tomasz.piech@up.lublin.pl

Badania nad skutecznością leczenia grzybiczych zapaleń wymion u krów, stanowiących czynnik etiologiczny od kilku do kilkunastu procent przypadków mastitits, nie zaowocowały jak dotąd wprowadzeniem na rynek polski gotowych preparatów dowymieniowych. Brak zainteresowania przemysłu farmaceutycznego wprowadzeniem skutecznego leku wynika być może z faktu, iż większość preparatów przeciwgrzybiczych wykazuje działania niepożądane (drażniące działanie na tkankę gruczołową, niską aktywność przeciwgrzybiczną lub inne). Nie bez znaczenia jest także z reguły łagodny przebieg zapalenia, które w naszych warunkach klimatycznych wywoływane jest najczęściej przez grzyby należące do rodzaju *Candida spp.* W wielu przypadkach po kilku lub kilkunastu tygodniach dochodzi bowiem do samoistnego ustąpienia stanu zapalnego wymienia.

**Cel badań:** Określenie skuteczności leczenia grzybiczych zapaleń wymion powodowanych przez *Candida spp.* poprzez skojarzone dowymieniowe podawanie klotrimazolu i enilkonazolu.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 56 krów chorych na mastitis, u których badaniem laboratoryjnym mleka rozpoznano grzybicze (drożdżycowe) zapalenie wymienia. Z reguły krowy uprzednio były długotrwale i bezskutecznie leczone antybiotykami przeciwbakteryjnymi. Do leczenia użyto mieszaninę 200 mg klotrimazolu i 400 mg enilkonazolu zawieszonych w 500 ml jałowego płynu fizjologicznego. Lek wprowadzano do zatoki mlecznej w ilości 100 ml, 5-krotnie w odstępach 12 godzin. Badanie kontrolne oparto na wynikach badań mikologicznych przeprowadzanych w czasie 7 dni po ostatniej inlokacji preparatu. W razie konieczności leczenie powtarzano, zachowując ten sam tok postępowania.

**Wyniki i omówienie:** Spośród poddanych leczeniu 56 ćwiartek wymienia pochodzących od 56 krów, po jednorazowej kuracji, pozytywny efekt terapii stwierdzono w 49 przypadkach, co stanowi 87,5%. W pozostałych niewyleczonych ćwiartkach przeprowadzono powtórny kurację, która doprowadziła do likwidacji infekcji w kolejnych 5 ćwiartkach (8,9%). Pozostałych 2 ćwiartek wymienia (3,6%) nie udało się wyleczyć. W czasie podawania leków przeciwgrzybiczych w 5 przypadkach zaobserwowano pojawienie się niewielkiej bolesności ćwiartek oraz w 10 przypadkach nieznacznych obrzęków. Zmiany te ustępowały najpóźniej do 3. dnia po zaprzestaniu podawania preparatu.

Przeprowadzone badania wykazały przydatność zastosowanych leków przeciwgrzybiczych do leczenia drożdżycowych zapaleń wymion u krów mimo pojawiającego się efektu drażniącego tkankę gruczołową wymienia. Podobne efekty uboczne po zastosowaniu preparatów przeciwgrzybiczych stwierdzono w innych badaniach. W badaniach własnych zastosowano próbę łączenia 2 różnych preparatów przeciwgrzybiczych, co niewątpliwie rozszerzyło spektrum działania leku.



## INWAZJE TASIEMCÓW U BYDŁA Z WYBRANYCH REGIONÓW POLSKI TAPEWORMS INVASION IN CATTLE IN CHOSEN REGIONS OF POLAND

Jolanta Piekarska<sup>1</sup>, Marian Kuczaj<sup>2</sup>, Magdalena Wereszczyńska<sup>1</sup>, Michał Gorczykowski<sup>1</sup>,  
Krzysztof Janeczko<sup>3</sup>, Katarzyna Płoneczka-Janeczko<sup>4</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <sup>1</sup>Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów. Zakład Parazytologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: jolanta.piekarska@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Instytut Hodowli Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38c, 51-630 Wrocław;

<sup>3</sup>Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich Pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław; <sup>4</sup>Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

Tasiemce obok nicieni żołądkowo-jelitowych należą do powszechnych pasożytów bydła, utrzymywanego w systemie pastwiskowym. U przeżuwaczy pasożytuje wiele gatunków tasiemców z rodziny *Anoplocephalidae*, przy czym szczególne znaczenie sanitarno-hodowlane mają dwa: *Moniezia expansa* i *Moniezia benedeni*. Skoleks ich pozbawiony jest zarówno ryjka, jak i haków, a cechą rozpoznawczą dla obu gatunków są różnice w budowie strobilli, a szczególnie w rozmieszczeniu gruczołów międzyczłonowych. Okres dojrzewania tasiemców w jelicie przeżuwaczy wynosi 37–50 dni. Larwa typu cysticerkoid rozwija się w roztoczach *Oribatoidea* występujących masowo (kilka tysięcy na 1 m<sup>2</sup> powierzchni) na pastwiskach. *Moniezia* u starszych zwierząt ma przebieg subkliniczny, natomiast u młodych jest przyczyną poważnych chorób jelitowych, w znacznym stopniu upośledzających wartość produkcyjną i hodowlaną. Stanowi ona poważny, jednak dość rzadko podejmowany problem, zwłaszcza w chowie bydła wypasanego, ze względu na powszechność występowania żywiciela pośredniego w wilgotnych ekosystemach pastwisk.

**Cel badań:** Ocena stopnia zarażenia bydła utrzymywanego w systemie pastwiskowym pochodzącego z terenów Polski południowej tasiemcami z rodziny *Anoplocephalidae*.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki kału pobranego z prostnicy od 211 krów rasy holsztyńsko-fryzyskiej i polskiej-czerwonej, pochodzących z losowo wybranych stad bydła w Polsce południowej. Badania przeprowadzono w październiku i listopadzie 2011 r. Badaniem objęto od 32–73% pogłowa w zależności od wielkości stada. Próbkę kału badano metodą flotacyjną Willis-Schlaafa oraz metodą dekantacji wg Stefańskiego i Żarnowskiego.

**Wyniki:** Badania koproskopowe wykazały obecność jaj tasiemców w 5 na 12 zbadanych stad bydła, tj. w 41% badanych gospodarstw. Odsetek zarażonych krów w stadach wynosił od 15,5 do 30,5% i był najwyższy u krów w wieku ok. 2–3 lat.

Badania potwierdziły, iż pastwiskowy system utrzymania bydła i związana z tym kontaminacja pastwisk znacząco rzutują na możliwość dalszego rozprzestrzeniania się i utrzymywania inwazji tasiemców w stadach.





## SEROLOGICZNA I MOLEKULARNA OCENA WYSTĘPOWANIA BHV-1 U BYDŁA W REGIONIE WARMII I MAZUR

### SEROLOGICAL AND MOLECULAR EVALUATION OF BHV-1 PREVALENCE IN CATTLE IN WARMIA AND MAZURY REGION

Zbigniew Procajło, Ewelina Czarniecka, Wojciech Szweda

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: procajlo@uwm.edu.pl

Herpeswirus bydlęcy typu 1 (BHV-1), należący do rodziny *Herpesviridae*, jest przyczyną zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła (IBR). Obserwuje się wzrastające rozprzestrzenianie się tego wirusa w stadach bydła oraz związany z tym wzrost zachorowalności zwierząt w świecie i w Polsce.

**Cel pracy:** Ocena występowania zakażeń BHV-1 w populacji bydła w regionie Warmii i Mazur z wykorzystaniem metod serologicznych oraz molekularnych.

**Materiał i metody:** Badaniami objęto 1483 sztuki bydła mlecznego w wieku powyżej 6 mies., pochodzące z 8 stad zlokalizowanych na terenie Warmii i Mazur. Materiał do badań pobrano od 95 osobników i kolekcjonowano w okresie od czerwca 2010 r. do stycznia 2011 r. Liczebność próbek ustalono, zakładając wykrycie z 95% prawdopodobieństwem zakażenia BHV-1 w stadzie na poziomie 20% (95/20). Do badań laboratoryjnych pobierano krew oraz wymazy z błony śluzowej jamy nosowej. Materiał do badań pobierano losowo od zwierząt niezależnie od występowania objawów klinicznych IBR. Obecność przeciwciał dla BHV-1 w surowicy bydła stwierdzano metodą ELISA, przy użyciu dwóch konwencjonalnych zestawów do wykrywania przeciwciał anty-gE i anty-gB BHV-1. Obecność materiału genetycznego BHV-1 w wymazach z nosa wykrywano konwencjonalną metodą PCR z zastosowaniem starterów dla genu glikoproteiny C (gC).

**Wyniki i omówienie:** Badania serologiczne wykazały znaczne rozprzestrzenienie zakażeń BHV-1 w populacji bydła w regionie Warmii i Mazur, wyrażające się współczynnikiem prewalencji wynoszącym 62,5%. W stadach zakażonych stwierdzono duże zróżnicowanie stopnia natężenia zakażeń BHV-1, wyrażające się występowaniem lub brakiem objawów klinicznych IBR oraz współczynnikami prewalencji od 10,0 do 84,6% (średnio 27,4%). Podobne wyniki uzyskano w innych krajowych badaniach.

Badaniami molekularnymi, z wykorzystaniem techniki PCR, nie wykazano wydalania wirusa z wydzielinami z nosa u bydła serologicznie dodatniego i ujemnego, co potwierdza okresowość siewstwa w przebiegu zakażenia BHV-1. Technika PCR jako metoda diagnostyczna może być wykorzystywana do wykrywania materiału genetycznego BHV-1 wówczas, gdy zwierzę wykazuje typowe objawy kliniczne tej choroby, a wymazy z nosa są pobierane w okresie ich trwania, najpóźniej do 2 tyg. od momentu zakażenia.



## PRZECIWDROBNOUSTROJOWA AKTYWNOŚĆ BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ IZOLOWANYCH Z SIARY KRÓW

### ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM COLOSTRUM OF COWS

Andrzej Puchalski, Marta Dec, Renata Urban-Chmiel, Andrzej Wernicki

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Prewencji Weterynaryjnej, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin,  
e-mail: andrzej.puchalski@up.lublin.pl

**Wstęp:** Bakterie kwasu mlekowego (LAB) produkują szereg substancji o działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwwgrzybicznym, które tworzą środowisko niekorzystne do wzrostu patogenów przewodu pokarmowego. Najważniejszą rolę pełnią tu kwas mlekowy, nadtlenek wodoru i bakteriocyny. Celem badań były identyfikacja oraz ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych LAB izolowanych z siary krów.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 20 szczepów bakterii kwasu mlekowego wyizolowanych z 16 siar pochodzących od klinicznie zdrowych krów rasy simentalskiej i holsztyńsko-fryzyskiej. Wyrosłe na agarze MRS, Gram-dodatnie i katalazododatnie bakterie LAB identyfikowano za pomocą systemu spektrometrii mas MALDI-TOF (oprogramowanie MALDI Biotyper). Badanie właściwości przeciwdrobnoustrojowych bakterii LAB przeprowadzono metodą cylinderkową oceniając działanie substancji zawartych w podłożu wzrostowym. Zastosowano 4 opcje: supernatant niezagęszczony, supernatant zagęszczony 10x przez liofilizację medium pochodowlanego, supernatant zagęszczony 10x o pH doprowadzonym do 7,0 w celu eliminacji działania kwasów organicznych oraz supernatant zagęszczony 10x o pH 7,0 z dodatkiem katalazy w celu eliminacji działania  $H_2O_2$ . Właściwości antagonistyczne badanych szczepów określano w stosunku do: *Salmonella enterica* spp. *enterica* ser. Enteritidis ATCC 13076, *E. coli* ATCC 8734, *St. aureus* ATCC 6538 i *C. albicans* ATCC 10231. Po 24 godz. hodowli w warunkach odpowiednich dla szczepów wskaźnikowych dokonywano pomiaru stref zahamowania ich wzrostu.

**Wyniki i omówienie:** Spośród 20 wyizolowanych szczepów bakterii 5 zidentyfikowano jako *Pediococcus pentosaceus*, 5 jako *Lactobacillus plantarum*, 6 jako *Lactobacillus fermentum*, a 4 szczepy jako *Lactobacillus paracasei*. W przypadku *P. pentosaceus*, *Lb. plantarum* oraz *Lb. paracasei* antagonistyczne działanie w stosunku do wszystkich szczepów wzorcowych stwierdzono tylko w przypadku supernatantu 10x zagęszczonego. Po trzy szczepy *P. pentosaceus* i *Lb. paracasei* oraz dwa *Lb. plantarum* wykazywały takie działanie we wszystkich wariantach doświadczenia w stosunku do *C. albicans*. W przypadku *Lb. fermentum* tylko dwa szczepy wykazywały przeciwdrobnoustrojową aktywność w stosunku do *E. coli* oraz *St. aureus* i jeden szczep w stosunku do *Salmonella* Enteritidis w wariantcie z supernatantem 10x zagęszczonym. W stosunku do *C. albicans* trzy szczepy wykazywały takie działanie we wszystkich wariantach doświadczenia. Uzyskane wyniki wskazują, że głównym czynnikiem hamującym wzrost drobnoustrojów testowych były kwasy organiczne, a nie bakteriocyny i/lub  $H_2O_2$ .



## WPŁYW ZAKAŻENIA WIRUSEM BVD-MD NA ROZWÓJ HIPERGLIKEMII U BYDŁA

### THE INFLUENCE OF BVD-MD VIRUS INFECTION ON DEVELOPMENT OF HYPERGLYCAEMIA AT CATTLE

Justyna Radwińska, Anita Procajło, Artur Stopyra, Katarzyna Żarczyńska, Anna Snarska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn, e-mail: justyna.radwinska@uwm.edu.pl

Konsekwencje zakażeń wirusowych u ludzi i zwierząt są bardzo zróżnicowane i mogą stanowić bezpośrednie lub pośrednie zagrożenie dla życia. W medycynie człowieka zaobserwowano, że wiele wirusów, np. cytomegalowirus, herpeswirus czy wirus Epsteina-Barr ma charakter czynników diabetogennych, często powodujących rozwój insulino-zależnej cukrzycy u ludzi. W odniesieniu do zwierząt gospodarskich, a szczególnie bydła, cukrzyca jest sporadycznie diagnozowaną jednostką chorobową. Mimo to, stwierdza się, że podobnie jak u ludzi, *diabetes mellitus bovis* może być indukowana przez wirusy (wirus przyszczycy).

**Cel badań:** Określenie, czy powszechnie występujący w hodowli krów na świecie wirus biegunki i choroby błon śluzowych bydła (BVDV) może spowodować wystąpienie objawów charakterystycznych dla cukrzycy, w tym znaczną hiperglikemię.

**Materiał i metody.** Badania przeprowadzono na 60 krowach rasy holsztyńsko-fryzyjskiej pochodzących z gospodarstw północnej i północno-wschodniej Polski, nieszczepionych przeciwko BVDV. Grupę kontrolną stanowiło 20 zwierząt, klinicznie zdrowych, niezakażonych wirusem, natomiast grupę badaną 40 krów, u których potwierdzono zakażenie BVDV. W badaniu klinicznym oprócz objawów biegunki stwierdzono m.in. osłabienie zwierząt, odwodnienie I lub II stopnia. Krew do badań zaplanowanych w doświadczeniu pobierano trzykrotnie w odstępach 48 godz., z żyły jarzmowej zewnętrznej (*vena jugularis externa*) do odpowiednich probówek. Stężenie glukozy w surowicy określono metodą enzymatyczną aparatem biochemicznym ACCES 200 (Cormay), dodatkowe badania morfologiczne oznaczono w analizatorze hematologicznym ADVIA 2021i (Siemens), używając metod opartych na cytometrii przepływowej i pomiarze laserowym, natomiast badania serologiczne i wirusologiczne (ELISA, RT-PCR), potwierdzające zakażenie krów przez BVDV, wykonano w laboratorium zewnętrznym. Wyniki badań laboratoryjnych przedstawiono w jednostkach układu SI i poddano analizie statystycznej metodą analizy wariancji (ANOVA), przy użyciu testu NIR.

**Wyniki i omówienie:** Zawartość glukozy we krwi krów dwóch analizowanych grup różniła się istotnie. W przypadku zwierząt zakwalifikowanych do grupy kontrolnej stężenie glukozy utrzymywało się w granicach fizjologicznych opisanych dla gatunku i wynosiło średnio 3,14 mmol/l, podczas gdy u krów z objawami BVD-MD zanotowano istotne podwyższenie stężenia glukozy w surowicy w kolejnych pobraniach krwi (7,28; 6,95 i 5,89 mmol/l). Stwierdzona hiperglikemia u zwierząt zakażonych BVDV może być bezpośrednio łączona z rozwojem w ich organizmach cukrzycy. Pierwsze przypadki prawdopodobnego uszkodzenia trzustki i w konsekwencji wystąpienia *diabetes mellitus* opisali Tajima i wsp. [1992] i Clark [2003]. Obecnie przyjmuje się dwie teorie tłumaczące wirusową przyczynę rozwoju cukrzycy w trakcie BVD-MD. Pierwsza zwraca uwagę na bezpośrednie uszkodzenie komórek  $\beta$  trzustki przez BVDV. Druga uwzględnia mechanizmy autoimmunologiczne gospodarza wyzwolone w trakcie odpowiedzi układu odpornościowego na infekcję i działające niekorzystnie na syntezę i uwalnianie insuliny. Obserwowany wzrost stężenia glukozy w trakcie BVD-MD wymaga podjęcia dokładnych badań jednoznacznie określających wpływ BVDV na komórki wysp Langerhansa.



## WYKORZYSTANIE PRÓBEK MLEKA ZBIORCZEGO DO OKREŚLANIA STATUSU STADA W STOSUNKU DO BHV1

### THE USE OF BULK MILK SAMPLES TO DETERMINE THE HERD STATUS FOR BHV1

Jerzy Rola, Jan Franciszek Żmudziński

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Wirusologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: jrola@piwet.pulawy.pl

Herpeswirus bydlęcy typ 1 (BHV1) należy do najważniejszych czynników zakaźnych bydła. Wirus ten powoduje między innymi zakaźne zapalenie nosa i tchawicy (IBR), pęcherzykowe zapalenie błony śluzowej sromu i pochwy u krów (IPV) oraz napletka i prącia u buhajów (IBP), poronienia, zapalenie spojówek oraz zejścia śmiertelne nowo narodzonych cieląt. W wyniku zakażenia BHV1 dochodzi także do znacznego obniżenia produkcji mleka oraz zaburzeń w rozrodzie. Programy zwalczania BHV1 bazują głównie na badaniu próbek krwi. Wyniki badań służą do identyfikacji zakażonych zwierząt, a w zależności od stopnia rozprzestrzenienia BHV1 w stadzie – do wyboru odpowiedniej metody zwalczania. Badanie próbek krwi pobieranych od wszystkich zwierząt w stadzie jest kosztowne i dlatego w badaniach rozpoznawczych coraz częściej używane są próbki mleka.

**Cel badań:** Określenie statusu wybranych stad bydła dla BHV1, na podstawie badania próbek mleka zbiorczego.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki mleka zbiorczego pobrane z 29 gospodarstw o nieznanym statusie dla BHV1. Liczba krów w gospodarstwie wahała się od 24 do 136. Próbki mleka zbiorczego pobierano do probówek ze środkiem konserwującym i przesyłano do laboratorium. W każdym gospodarstwie od wszystkich krów pobrano także próbki krwi. Próbki krwi badano testami ELISA IBR gB i ELISA IBR gE, natomiast próbki mleka zbiorczego testami ELISA IBR pool i ELISA IBR gE.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie wyników badania próbek krwi stwierdzono, że wśród 29 stad bydła mlecznego 8 (27,6%) stad było wolne od zakażenia BHV1, 8 (27,6%) stad było szczepione szczepionką markerową przeciwko IBR, 3 (10,3%) stada były o niskim współczynniku zakażenia BHV1 (<10%), 3 (10,3%) kolejne stada były o średnim współczynniku zakażenia BHV1 (>10%<30%) oraz 7 (24,2%) stad o wysokim współczynniku zakażenia BHV1 (>30%).

Badania próbek mleka zbiorczego testem ELISA IBR pool wykazały wysoką zgodność z wynikami badań próbek krwi. Wszystkie stada wolne od BHV1 reagowały negatywnie, a stada zakażone BHV1 reagowały pozytywnie. Spośród 8 stad szczepionych szczepionką markerową 7 próbek mleka reagowało dodatnio, a 1 próbka ujemnie.

Test ELISA IBR gE z użyciem próbek mleka zbiorczego wypadł pozytywnie w stadach o średnim i wysokim współczynniku zakażenia BHV1. Spośród 3 stad o niskim współczynniku zakażenia BHV1 (<10%) 2 próbki mleka reagowały dodatnio, a 1 próbka ujemnie.



## OCENA AKTYWNOŚCI LUMINESCENCYJNEJ KRWI PEŁNEJ ORAZ MLEKA W STANACH ZAPALNYCH GRUCZOŁU MLEKOWEGO

### EVALUATION OF WHOLE BLOOD AND MILK LUMINESCENCE ACTIVITY DURING MAMMARY GLAND INFLAMMATION

Radosław Skórzewski, Wiesław Krumrych, Janusz Zbylut

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Fizjopatologii  
Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz,  
e-mail: [radoslaw.skorzewski@piwet.pulawy.pl](mailto:radoslaw.skorzewski@piwet.pulawy.pl)

Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że nadprodukcja reaktywnych form tlenu (RFT) może implikować w przebiegu wielu chorób ludzi i zwierząt. Metoda chemiluminescencji (CL) pozwala ocenić to zjawisko, przy czym niemal zawsze oceniano je we krwi obwodowej lub w izolowanych komórkach (1, 2, 3, 4). Wydaje się jednak, że pomiary CL w mleku mogą być użyteczne zwłaszcza w przypadkach zapaleń gruczołu mlekowego.

**Cel pracy:** Ocena aktywności chemiluminescencyjnej krwi pełnej oraz mleka w stanach zapalnych gruczołu mlekowego krów.

**Materiał i metody:** Materiał stanowiły heparynizowana krew żylna oraz mleko 46 krów rasy HF. W czasie do 3 godzin od momentu pobrania materiału oznaczano luminolozależną CL spontaniczną (BS) oraz stymulowaną zymosanem (Z), N-formylo-metionylo-leucylo-fenylalaniną (fMLP) oraz octanem mirystynianuforbolu (PMA) przy użyciu luminometrumikropłytkowego LuminoskanAscent, Typ 392 (ThermoLab-systems, Helsinki, Finlandia). Liczbę komórek somatycznych (LKS) w mleku określano przy użyciu licznika komórek somatycznych Somacount 150 (Bentley Instruments Inc., Chaska, Minnesota, USA).

**Wyniki i omówienie:** Materiał badawczy podzielono w zależności od LKS w mleku na 3 grupy: grupa I (kontrolna) – osobniki zdrowe bez objawów *mastitis*, LKS w mleku do 100 000/ml, grupa II – osobniki z LKS 100 000–400 000/ml oraz grupa III – LKS > 400 000/ml (mleko bez zmian makroskopowych). Średnia LKS w poszczególnych grupach wyniosła odpowiednio: 24 000/ml, 198 000/ml, oraz 4 300 000/ml. Wraz ze wzrostem LKS stwierdzono wzrost CL, zarówno we krwi jak i w mleku, aczkolwiek dynamika wzrostu tego wskaźnika była znacznie większa w mleku i w większym stopniu korelowała z LKS. Średnia wartość CL była o około 40% wyższa we krwi oraz średnio ponad 135 razy wyższa w mleku w grupie III w stosunku do grupy kontrolnej. Badania wskazują na dodatnią korelację między intensywnością stanu zapalnego a wartościami CL, przy czym wydaje się, że pomiary CL w mleku są lepszym niż krew obwodowa materiałem do oceny aktywności wolnorodnikowej komórek żernych w stanach zapalnych gruczołu mlekowego.





## PRZEWLEKŁY KRWIOMOCZ BYDŁA NA OBSZARZE KARPAT CHRONIC HAEMATURIA OF CATTLE IN THE AREA OF THE CARPATHIANS

Luba Slivinska<sup>1</sup>, Volodimir Levchenko<sup>2</sup>, Igor Maksymovych<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Lwowski Narodowy Uniwersytet Medycyny Weterynaryjnej i Biotechnologii, Katedra Chorób Wewnętrznych

<sup>2</sup>Biało-Cerkiewski Uniwersytet Przyrodniczy, Katedra Chorób Wewnętrznych i Diagnostyki Klinicznej

<sup>3</sup>Lwowski Narodowy Uniwersytet Medycyny Weterynaryjnej i Biotechnologii, Katedra Diagnostyki Klinicznej,  
e-mail: maksym\_vet@ukr.net

Przewlekły krwimocz bydła jest chorobą charakteryzującą się hematurią i obniżeniem produktywności zwierząt. Stosunkowo często choroba ta jest przyczyną usuwania zwierząt ze stada, jak również ich padnięć. Występowanie przewlekłego krwimoczu bydła dotyczy ściśle określonych regionów geograficznych. Najczęściej są to tereny górskie z dużą ilością krzewów i lasów. Na terenie Ukrainy choroba ta występuje w jej zachodniej części, szczególnie w rejonie Karpat [Слівінська 2007].

**Cel pracy:** Określenie występowania przewlekłego krwimoczu bydła na terenach zachodniej Ukrainy.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 363 krowy z trzech obwodów zachodniej Ukrainy (Zakarpackiego, Iwano-Frankowskiego i Czerniowieckiego), u których w latach 2001–2006 rozpoznano przewlekły krwimocz bydła. Rozpoznanie tej choroby przeprowadzono na podstawie wyniku badania klinicznego oraz wyników badań laboratoryjnych krwi (hematologiczne i biochemiczne), a także wyniku badania moczu.

**Wyniki i omówienie:** Przewlekły krwimocz bydła rozpoznano u: 3,2% krów w obwodzie Zakarpacim, 1% krów w obwodzie Czerniowieckim oraz 0,5% krów w obwodzie Iwano-Frankowskim. Chorobę tę stwierdzono u 336 krów mlecznych (92,6%), 21 jałówek (5,5%) oraz u 6 cieląt w wieku 4–6 mies. (1,6%). Charakteryzowała ją sezonowość z okresem zaostrzenia: koniec marca – początek kwietnia oraz listopad – grudzień. W tym okresie zwierzęta karmiono sianem z naturalnych łąk leśnych, kiszonką z koniczyny, kukurydzy i dziko rosnących roślin oraz koncentratami paszowymi. W badaniu hematologicznym stwierdzono niską liczbę erytrocytów – śr.  $1,7 \pm 0,08 \times 10^{12}/l$  w ciężkim stadium, śr.  $3,7 \pm 0,06 \times 10^{12}/l$  w łagodnym stadium oraz śr.  $4,3 \pm 0,10 \times 10^{12}/l$  w subklinicznym stadium choroby. Liczba hematokrytowa u krów w ciężkim stadium choroby wynosiła śr.  $20,6 \pm 0,34\%$ , natomiast u krów z łagodnym i subklinicznym stadium choroby, odpowiednio – śr.  $25,3 \pm 0,24\%$  i śr.  $27,7 \pm 0,37\%$ . U krów z subkliniką postacią choroby stężenie hemoglobiny wynosiło śr.  $88,5 \pm 2,06$  g/l, w łagodnym stadium – śr.  $77,9 \pm 1,43$  g/l, natomiast u krów w ciężkim stadium – śr.  $42,2 \pm 2,28$  g/l. Wartość MCV u krów w ciężkim stadium krwimoczu była 2,4 i 2,6 razy większa w porównaniu z krowami z łagodnym i subklinicznym stadium choroby. Anemia występująca u krów z przewlekłym krwimoczem jest nie tylko wynikiem hematurii. W etiologii tej choroby należy uwzględnić niedobory mikroelementów stymulujących hemopoezę, głównie Co i Cu. Stężenie Cu w surowicy krwi było obniżone u 40% chorych krów (śr.  $12,1 \pm 0,31$   $\mu\text{mol}/l$ ) i było istotnie niższe w porównaniu z krowami zdrowymi (śr.  $15,6 \pm 0,41$   $\mu\text{mol}/l$ ). U krów z przewlekłym krwimoczem stężenie Co w surowicy krwi było 1,8 razy niższe. Niedobór Co jest przyczyną zmniejszonej syntezy wit. B<sub>12</sub> przez mikroorganizmy żwacza [Vellema 2000]. Stężenie wit. B<sub>12</sub> wynosiło śr.  $214,0 \pm 4,18$   $\mu\text{mol}/l$  i było o 62,4% niższe niż u krów zdrowych. Wit. B<sub>12</sub> jest niezbędna do tworzenia kwasu foliowego, którego stężenie w surowicy krwi krów chorych wynosiło śr.  $12,3 \pm 0,30$  ng/ml i było o 18% niższe niż u krów zdrowych. W badaniu biochemicznym stwierdzono hipoproteinemię i hipoalbuminemię, a w badaniu moczu: proteinurię, hematurię oraz obecność erytrocytów, wałeczków ziarnistych i komórek nabłonkowych.



## OCENA UKŁADU CZERWONOKRWINKOWEGO SZPIKU KOSTNEGO CIELĄT W PIERWSZYCH MIESIĄCACH ŻYCIA

### ASSESSMENT OF ERYTHROCYTES IN THE BONE MARROW OF YOUNG CALVES IN THE FIRST MONTHS OF LIFE

**Anna Snarska, Wioletta Krystkiewicz, Sylwia Lew, Artur Stopyra, Justyna Radwińska,  
Wojciech Rękawek**

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób  
Wewnętrznych, ul. Oczapowskiego St. 14, 10-719 Olsztyn, anna.snarska@onet.eu*

Ocena szpiku kostnego bydła jest rzadko stosowaną metodą w określaniu aktywności hematopoezy u tego gatunku zwierząt. Często diagnozowana niedokrwistość u cieląt może wynikać nie tylko ze stanów niedoborowych np. Fe, Cu oraz witamin takich jak kobalamina i kwas foliowy, ale także z głębokich zaburzeń erytropoezy.

**Cel pracy:** Opracowanie zakresu wartości referencyjnych dla cieląt zdrowych, powszechnie występującej rasy H-F. Możliwość odniesienia się do wartości prawidłowych zapewni właściwą diagnostykę stanów patologicznych w procesie erytropoezy.

**Materiał i metody:** Szpik kostny pobrano od 20 klinicznie zdrowych cieląt rasy H-F w wieku od 2 do 6 miesięcy. Aspirat szpiku kostnego pobrany został z 3.–4. żebra w okolicy mostka po uprzednim zastosowaniu znieczulenia miejscowego. W celu wybarwienia i oceny komórek szpiku zastosowano metodę Pappenheima ze skróconymi czasami barwienia. Pobranie poprzedzone zostało wykonaniem morfologii krwi obwodowej i oznaczeń biochemicznych.

**Wyniki i omówienie:** W linii rozwojowej erytrocytarnej wykazano obecność w %: proerytroblasty 2,1, erytroblasty zasadochłonne 2,1, erytroblasty wielobarwliwe 13,53, erytroblasty kwasochłonne 19,98. Wyniki badań zbliżone były do rezultatów, które uzyskał Jain i Wilde. W badaniach własnych zaobserwowano spadek liczby erytroblastów zasadochłonnych i wzrost liczby erytroblastów wielobarwliwych w stosunku do wcześniej ustanowionych wartości referencyjnych dla zwierząt dorosłych. W badaniach własnych wykazano, że u bydła jąderka w proerytroblastach są słabiej widoczne, a cytoplazma tych komórek wybarwia się na kolor jasnoniebieski. U innych gatunków zwierząt, np. psów i kotów jąderka proerytroblastów wybarwiają się na nieco ciemniejszy kolor i struktura ich jest wyraźnie bardziej zbita w stosunku do otaczającej cytoplazmy. U bydła błona komórkowa proerytroblastu wybarwia się na kolor ciemnogrnatowy, jest wyraźnie odgraniczona od niewielkiej ilości cytoplazmy.



## PRÓBY ZASTOSOWANIA SZYBKICH TESTÓW HRSV DO DIAGNOSTYKI ZAKAŻEŃ SYNCYTIALNYM WIRUSEM ODDECHOWYM BYDŁA

### EVALUATION OF USEFULNESS OF RAPID HRSV STRIP TESTS FOR DIAGNOSIS OF BOVINE RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS

Wojciech Socha, Jerzy Rola

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii, Al. Partyzantów 57,  
24-100 Puławy, e-mail: wojciech.socha@piwet.pulawy.pl

Syncytialny wirus oddechowy bydła (BRSV) zaliczany jest do najważniejszych czynników chorobotwórczych odpowiedzialnych za zakażenia dróg oddechowych u bydła. Diagnostyka bezpośrednia zakażeń BRSV najczęściej oparta jest na wykrywaniu wirusa testem ELISA lub RT-PCR. Obecnie na rynku dostępne są szybkie immunchromatograficzne testy paskowe do wykrywania zakażeń syncytialnym wirusem oddechowym ludzi (HRSV).

**Cel pracy:** Próba zastosowania testów paskowych HRSV do wykrywania wirusa u zwierząt zakażonych eksperymentalnie szczepem szczepionkowym BRSV.

**Materiał i metody:** Do badania wybrano 5 zdrowych cieląt w wieku 6–8 tygodni, seronegatywnych dla BRSV. Trzem cielętom podano donosowo 2 ml żywej szczepionki Rispoval RS-PI3 (Pfizer). Cielętom kontrolnym podano donosowo 2 ml wody redestylowanej. Obie grupy trzymano oddzielnie, by zapobiec transmisji wirusa szczepionkowego. Od wszystkich cieląt pobierano wymazy, poczynając od dnia poprzedzającego inokulację (-1 dpi), aż do 28. dnia po podaniu szczepionki. Pobrane wymazy poddawano badaniu na obecność wirusa z wykorzystaniem 3 szybkich testów paskowych RSV-Respi-strip (Coris), TRU RSV (Meridian Bioscience) and BinaxNOW RSV (Inverness Medical). Jako metodę odniesienia zastosowano test RT-PCR, specyficzny dla glikoproteiny G.

**Wyniki i wnioski:** Wszystkie oceniane szybkie testy reagowały dodatnio zarówno ze szczepami referencyjnymi BRSV, jak i ze szczepem HRSV, w przeciwieństwie do testu RT-PCR, który dodatnio reagował tylko ze szczepami BRSV. Granica detekcji dla każdego z szybkich testów była taka sama i wynosiła ok.  $156 \text{ TCID}_{50}$ , natomiast dla testu RT-PCR wynosiła ona  $39,1 \text{ TCID}_{50}$ . Testem RT-PCR potwierdzono obecność wirusa w 12 z 30 wymazów pobranych od zwierząt szczepionych. Test RSV Respi-strip test pozwolił na wykrycie wirusa w 7 wymazach, test TRU RSV w 4, natomiast test BinaxNOW RSV w 9. W żadnym z wymazów pobranych od zwierząt kontrolnych nie wykrywano obecności BRSV, zarówno za pomocą testu RT-PCR, jak i szybkich testów paskowych. Czułość oraz specyficzność diagnostyczna obliczone na podstawie uzyskanych wyników wynosiły odpowiednio: dla RSV-Respi strip: 33 i 87%, dla TRU RSV test: 33 i 100%, a dla Binax Now RSV 50 i 87%.

Test TRU RSV ze względu na wysoką specyficzność można potencjalnie wykorzystać do wykrywania BRSV w warunkach terenowych.



## ROZPRZESTRZENIENIE ZAKAŻEŃ SYNCYTIALNYM WIRUSEM ODDECHOWYM BYDŁA (BRSV) W POPULACJI BYDŁA W POLSCE

### OCCURENCE OF BOVINE RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS (BRSV) INFECTIONS IN CATTLE POPULATION IN POLAND

Wojciech Socha, Jerzy Rola

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: wojciech.socha@piwet.pulawy.pl

Syncytialny wirus oddechowy bydła (BRSV) zaliczany jest do najważniejszych czynników chorobotwórczych odpowiedzialnych za zakażenia dróg oddechowych u bydła. W zależności od warunków wirus ten może samodzielnie wywoływać zachorowania z objawami ostrej niewydolności oddechowej lub być jednym z czynników wywołujących syndrom oddechowy. Zakażenia BRSV występują powszechnie wśród bydła na całym świecie, a straty ekonomiczne powodowane przez ten wirus w samej Europie Zachodniej ocenia się na kilkaset milionów euro rocznie.

W Polsce dotychczas brak było dokładnych danych o występowaniu BRSV w populacji bydła. Zatem celem niniejszych badań była ocena rozprzestrzenienia BRSV w stadach bydła w Polsce, na podstawie wyników badań serologicznych.

**Materiał i metody:** Próbkę krwi pozyskano od 3070 zwierząt z 324 stad bydła mlecznego z terenu całej Polski. Wśród badanych zwierząt było 856 jałówek oraz 2214 buhajów. W tej ostatniej grupie 1781 próbek pobrano od buhajów produkcyjnych, a pozostałe 433 próbki od młodych buhajków testowych. Wiek jałówek wahał się od 12 do 18 miesięcy, buhajków młodych od 3 do 9 miesięcy, zaś buhajów produkcyjnych od 3 do 7 lat. W celu łatwiejszej oceny różnic regionalnych w rozprzestrzenieniu zakażeń BRSV zwierzęta zostały podzielone na 4 grupy pochodzące z makroregionów, których granice pokrywały się z zasięgiem działalności krajowych centrów hodowli i rozrodu zwierząt: makroregion I obejmował – Polskę południową, II – Polskę centralną, III – Polskę zachodnią a IV – Polskę północną i wschodnią. Pobrane próbki poddano badaniu testem ELISA BRSV-Ab (Svanova), na obecność przeciwciał dla BRSV. Test został wykonany zgodnie z instrukcją producenta.

**Wyniki i omówienie:** Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że 61,4% zwierząt posiadało przeciwciała specyficzne dla BRSV, co stanowiło odsetek zbliżony do obserwowanego w innych krajach europejskich. Stwierdzono wyraźne różnice międzyregionalne, jeśli chodzi o odsetek zwierząt seropozytywnych. Najwyższy odsetek – 80,4% zarejestrowano w Polsce zachodniej, najniższy – 29,6% w Polsce południowej. Odsetek zwierząt zakażonych różnił się w zależności od wieku zwierząt. U osobników powyżej 2. roku życia wynosił 66,1%, u młodszych – 54,9%. Uzyskane wyniki potwierdziły powszechność występowania zakażeń BRSV, a co za tym idzie, istotny udział tego wirusa w zakażeniach układu oddechowego bydła w Polsce. Wyniki te mogą być także wskazaniem do stosowania szczepionek przeciwko BRSV w celu ograniczenia strat ekonomicznych związanych z zakażeniami tym wirusem.



## ODDZIAŁYWANIE FLORFENIKOLU I FLUNIKSYNY W POŁĄCZENIU Z WYBRANYMI ANTYOKSYDANTAMI NA PARAMETRY STRESU OKSYDACYJNEGO U CIELĄT WSTAWIONYCH NA OPAS

### THE INFLUENCE OF FLORPHENICOL AND FLUNIXIN WITH CHOSEN ANTIOXIDANTS ON OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN CALVES DURING FEEDLOT

Rafał Stachura, Renata Urban-Chmiel, Piotr Hola, Andrzej Puchalski, Marta Dec, Andrzej Wernicki

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie. Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Prewencji Weterynaryjnej, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: renata.urban@up.lublin.pl

Choroby układu oddechowego u bydła stanowią poważny problem zdrowotny i ekonomiczny w kraju oraz innych rejonach świata. Straty ekonomiczne wynikają z wysokiej zachorowalności i śmiertelności, kosztów leczenia i profilaktyki. W złożonej etiopatogenezie zespołu oddechowego uczestniczą wirusowe i bakteryjne czynniki zakaźne oraz usposabiające środowiskowe czynniki stresowe związane z transportem i wstawieniem na opas.

Z uwagi na obszerny zakres problemu zdrowotnego jakim jest zespół oddechowy u bydła opasowego, oraz ograniczone możliwości skutecznej immunoprofilaktyki, celem podjętych badań była ocena oddziaływania fluniksyny z florfenikolem w połączeniu z witaminami E lub C na wybrane parametry stresu oksydacyjnego u cieląt wstawionych na opas.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 50 cielątach rasy Simmentaler o masie ok. 160 kg, które otrzymywały: florfenikol z fluniksyną w połączeniu z wit. E lub C oraz florfenikol z fluniksyną bez witamin. Krew na surowicę i EDTA pobierano w 1., 3., 7., 14., 21. i 28. dniu opasu. W stosunku do leukocytów wykonano ocenę aktywności metabolicznej z zastosowaniem testu NBT jako pośredniego wskaźnika aktywności oksydacyjnej komórek. W surowicach określano stężenie końcowych produktów peroksydacji lipidów reagujących z kwasem tiobarbiturowym (TBARS) oraz zawartość jonów  $\text{NO}_2$  [Urban-Chmiel et al. 2011].

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie uzyskanych wyników można przyjąć, że zastosowane działania w istotny sposób ograniczyły rozwój stresu oksydacyjnego wyrażonego zmniejszoną koncentracją TBARS i  $\text{NO}_2$ , co szczególnie zauważono w grupie cieląt, które otrzymywały florfenikol z fluniksyną z antyoksydantami. Można przyjąć, że obserwowany hamujący wpływ podanych preparatów na rozwój stresu oksydacyjnego odgrywa istotną rolę w ograniczaniu procesu chorobowego u cieląt wstawionych na opas. Potwierdza to również analiza korelacji pomiędzy badanymi parametrami oksydacyjnymi. Wysokie wartości współczynników korelacji ( $r \geq 0,9$ ) świadczą o dużej zależności w obrębie obu badanych parametrów stresu oksydacyjnego. Wskazują również pośrednio na możliwości zamiennego oznaczenia stężenia TBARS lub jonów  $\text{NO}_2$  w ocenie statusu antyoksydacyjno/oksydacyjnego cieląt wstawionych na opas. O pozytywnym oddziaływaniu zastosowanych preparatów świadczą rezultaty uzyskane w ocenie metabolizmu wewnątrzkomórkowego leukocytów, wykazane w teście NBT. Istotnie statystycznie ( $p \leq 0,05$ ), w porównaniu z grupą kontrolną, obniżenie absorbancji w badanych grupach w poszczególnych dniach opasu wskazuje na korzystny efekt w zakresie stabilności struktur wewnątrzkomórkowych, jak również świadczy o ograniczeniu stresu oksydacyjnego w komórkach, wyrażonego zmniejszoną produkcją wolnych rodników.

Uzyskane wartości wskazują również na bezpośrednią zależność pomiędzy działaniem zastosowanych preparatów a rozwojem stresu oksydacyjnego u cieląt wstawionych na opas, co jest niezwykle korzystne z uwagi na znaczny jego udział w patogenezie zespołu oddechowego u bydła.





## ROZMIARY I STRUKTURA CIAŁKA ŻÓŁTEGO A WYNIKI ZACIELEŃ U JAŁOWIC BIORCZYŃ ZARODKÓW

### CORPUS LUTEUM-RELATED FACTORS AFFECTING PREGNANCY ESTABLISHMENT IN BOVINE RECIPIENTS

Krzysztof Urbaniak, Marta Jackowska, Magdalena Woźna, Jan Włodarek,  
Jędrzej Maria Jaśkowski

Uniwersytetu Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Weterynarii, ul. Wojska Polskiego 52, 60-6625 Poznań, e-mail: jasko@up.poznan.pl

**Wstęp:** Stężenie progesteronu i rozmiary ciała żółtego korelują z wynikami zacieleń. Ultrasonograficznie struktura części ciała żółtych nie jest jednolita. Niekiedy obserwuje się w ich wnętrzu jamkę o różnej średnicy. Z reguły w dużych ciałkach żółtych znajdują się duże jamki. Nierzadko tworzy takie uznawane są za cysty jajnikowe, a biorczynie dyskwalifikowane.

**Cel badań:** Ocena wpływu rozmiarów i struktury ciała żółtego na wyniki zacieleń u jałowic biorczyń zarodków.

**Materiał i metody:** Ruje indukowano lub synchronizowano przy użyciu i.m. iniekcji 0,5 ug cloprostenolu zawartego w 2 ml preparatu Estrumate. W 7. dniu po rui u wszystkich biorczyń przeprowadzono ultrasonograficzne badanie jajników, kwalifikując do transferu wyłącznie te samice, u których na jajniku (-ach) stwierdzono obecność ciała żółtego. Do badania używano aparatu ultrasonograficznego Dramiński Animal Profi wyposażonego w głowicę sektorowa 5 MHz oraz lub Easy Scan z głowicą liniową 5 MHz. Stwierdzone ultrasonograficznie ciała żółte (CL) mierzono, określając ich średnicę, a także oceniano ich strukturę. W przypadku stwierdzenia obecności położonej centralnie jamki, mierzono jej średnicę. W zależności od rozmiarów jamki ciała żółte podzielono na cztery kategorie. Były nimi ciało żółte lite (bez jamki) oraz ciało żółte z małą – do 5 mm, średnią do 10 mm i dużą (>10 mm) – jamką. Do transferu przeznaczono zarodki świeże lub mrożone dobrej i bardzo dobrej jakości, wprowadzając je za pomocą pistoletu Cassou, wyposażonego w polietylenowe jednorazowe osłonki do ipsilateralnego w relacji do ciała żółtego – rogu macicy. Biorczynie uprzednio znieczulano nadoponowo za pomocą 2% Polocainy. Ciężę stwierdzano klinicznie po upływie 2 miesięcy.

**Wyniki i omówienie:** Spośród 263 biorczyń wyeliminowano 129 (49,0%). Głównymi powodami eliminacji biorczyń były: brak rui w okresie 6–8 dni przed transferem, brak aktywności jajników (jajniki niepowiększone, bez wyraźnych tworów strukturalnych), torbiele jajnikowe i inne. Część biorczyń nie zostało wykorzystanych do transferu z powodu braku dostatecznej liczby zarodków. U 134 biorczyń stwierdzono obecność ciała żółtego. Z tej liczby 43 (32,1%) znajdowały się w mięszu jajnika, pozostałe 91 (67,9%) ciałek żółtych sterczało ponad jego powierzchnię. Ciało żółte częściej stwierdzano na prawym niż lewym jajniku, chociaż jego średnica była porównywalna. Lite CL o przeciętnej średnicy 17,2 mm wykazano u 89 biorczyń (66,4%), w pozostałych 45 (33,6%) przypadkach wewnątrz ich mięszu znajdowała się jamka. Średnica CL z jamką wynosiła 22,1 mm (11 do 30 mm) i była większa od średnicy litych CL. Przeciętna średnica stwierdzanych w ich mięszu jamek natomiast wynosiła 10,2 mm (3 do 20 mm). Ciała żółte z jamką małą, średnią i dużą zarejestrowano w odp. 9, 21 i 15 przypadkach, co stanowiło 20, 46,7 i 33,3%. Średnice tych CL wynosiły odp.: 16,9, 18,2 i 22,4 mm. Wskaźnik zacieleń u biorczyń z litymi CL oraz CL z jamką małą, średnią i dużą wyniósł odp. 46, 48,2 i 47% i nie różnił się znacząco. Z wstępnych badań wydaje się wynikać, że zarówno rozmiary, jak i struktura ciała żółtego mają umiarkowany wpływ na wyniki przenoszenia zarodków.



## OPORNOŚĆ NA ANTYBIOTYKI PATOGENÓW IZOLOWANYCH Z PRZYPADKÓW MASTITIS U KRÓW

### ANTIBIOTIC RESISTANCE OF PATHOGENS ISOLATED FROM COWS WITH BOVINE MASTITIS

Władysław Wawron, Tomasz Piech, Mariola Bochniarz

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: [wladyslaw.wawron@up.lublin.pl](mailto:wladyslaw.wawron@up.lublin.pl)

Jednym ze sposobów podnoszenia skuteczności terapii i profilaktyki zapaleń wymion jest dobór najbardziej skutecznych antybiotyków. Efekt ten można uzyskać poprzez identyfikację drobnoustroju wywołującego stan zapalny wymienia oraz określenie jego oporności na dostępne antybiotyki. Stale zmieniająca się wrażliwość bakterii na antybiotyki uzasadnia prowadzenie badań monitorujących z tego zakresu, co w znacznym stopniu przyczynić się może do ograniczenia strat wynikających z leczenia bez określania wrażliwości. Aktualne dane przydatne są także do odpowiedniego doboru antybiotyków stosowanych w okresie zasuszenia.

**Cel badań:** Określenie oporności na wybrane antybiotyki drobnoustrojów wyizolowanych z klinicznych i podklinicznych postaci zapalenia wymienia, w większości obecnych w gotowych preparatach dowymienionych, stosowanych w okresie laktacji oraz w zasuszeniu.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 2661 szczepów gronkowców, 2349 szczepów paciorkowców oraz 130 szczepów *Escherichia coli* wyizolowanych z klinicznych i podklinicznych przypadków zapaleń wymion u krów z gospodarstw mlecznych województwa lubelskiego. Ocenie poddano drobnoustroje wyizolowane w latach 2007–2011. Badania bakteriologiczne przeprowadzono za pomocą powszechnie przyjętych metod. Oporność bakterii na antybiotyki oceniono metodą krążkowo-dyfuzyjną na podłożu Mueller-Hintona, zgodnie z wytycznymi NCCLS. Do badań użyto następujących krążków bibułowych firmy Oxoid Limited (Basingstone-Anglia) zawierających penicylinę, streptomycynę, tetracyklinę, neomycynę, ampicylinę, amoxicycylinę, cefaleksynę, cefoperazon oraz linkomycynę.

**Wyniki i omówienie:** Badania oporności drobnoustrojów wywołujących stany zapalne gruczołu mlekowego wskazują na ciągłe zmiany odsetka szczepów opornych na stosowane antybiotyki, która okresowo wzrasta lub maleje. Różny jest także odsetek szczepów opornych poszczególnych grup bakterii na antybiotyki. Brak też jest antybiotyku uniwersalnego. Najskuteczniejszym antybiotykiem w stosunku do wszystkich bakterii wyizolowanych z przypadków *mastitis* u krów okazał się cefoperazon (7,2–7,3% szczepów opornych), a najmniej skutecznym tetracyklina i linkomycyna. Odsetek szczepów paciorkowców, gronkowców i *E. coli* opornych na tetracyklinę i linkomycynę wynosił odpowiednio: 36,0 i 27,5%, 30,7 i 26,4% oraz 29,1 i 89,2%. Dość skutecznym antybiotykiem w stosunku do paciorkowców i gronkowców okazała się w dalszym ciągu penicylina (odpowiednio 9,2% oraz 18,4% szczepów opornych). W porównaniu z poprzednimi badaniami nastąpił nawet wyraźny spadek ilości szczepów paciorkowców i gronkowców opornych na penicylinę.



## OŚRODKOWA MODULACJA OPIOIDOWA ZACHOWANIA POKARMOWEGO (FEEDING BEHAVIOUR) U OWCY

### OPIOID CENTRAL MODULATION OF FEEDING BEHAVIOUR IN SHEEP

**Małgorzata Wielgosz, Bogdan Feliks Kania**

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Fizjologicznych,  
ul. Nowoursynowska 159, 02-766 Warszawa, e-mail: malgorzata-wielgosz@wp.pl

**Wstęp:** Stanom bólowym oraz stresowym często towarzyszy utrata apetytu, co niejednokrotnie utrudnia racjonalną terapię choroby podstawowej zwierząt. Uniemożliwia to dostarczenie składników odżywczych dla organizmu. W regulację apetytu zaangażowany jest układ opioidowy. Receptory opioidergiczne zlokalizowane są w różnych strukturach OUN. Głównie w podwzgórzu, regulującym przyjmowanie pokarmów i motorykę przewodu pokarmowego. Znaczenie poszczególnych klas tych receptorów budzi do tej pory wiele kontrowersji i jest ciągle przedmiotem zainteresowań biologów.

**Cel pracy:** Określenie roli ośrodkowego receptora  $\mu$ -opioidergicznego w nasilonym przyjmowaniu pokarmu u owcy.

**Materiał i metody:** Doświadczenia wykonano na 8 dorosłych owcach, samicach rasy Merynos, będących w fazie *anoestrus*. DAGO – specyficzny agonista receptora  $\mu$ -opioidowego – infundowano *i.c.v.* w ciągu 1 min w dawkach 0,02–1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  m.c. Naloksonazyna – kompetycyjnego antagonistę receptora  $\mu$ -opioidowego – infundowano *i.c.v.* w ciągu 1 min na 10 min przed infuzją agonisty w dawkach 5-krotnie wyższych od dawek DAGO. Badane substancje stosowano w czasie przyjmowania i bez dostępu do karmy, badając równocześnie zmiany w mioelektrycznej aktywności motorycznej komór żołądka oraz określano ilość przyjmowanego pokarmu.

**Wyniki i omówienie:** DAGO infundowany *i.c.v.* w dawkach 0,02; 0,05; 0,1 i 1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  m.c. znamienne hamował mioelektryczną aktywność przedżołądków i trawieńca w czasie 180 min obserwacji. Efekt wywołany przez DAGO był znoszony przez premedykację naloksonazyną infundowaną również *i.c.v.* w dawkach 0,1; 0,5; 1,0 i 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  m.c.

DAGO stosowane w ww. dawkach podczas przyjmowania karmy znacznie zwiększało ilość przyjmowanego siana w stosunku do zwierząt kontrolnych, podczas gdy infuzja samej naloksonazyny nieznacznie go tylko zmniejszała. Z kolei infundowanie naloksonazyny na 10 min przed DAGO powodowało, iż wyniki były porównywalne z uzyskanymi w kontroli.

Wyniki te wskazują zarówno na udział ośrodkowego receptora  $\mu$ -opioidergicznego w regulacji motoryki żołądka, jak i zachowania pokarmowego u owcy.



## IMMUNOTROPOWE ODDZIAŁYWANIE PREPARATU BIOLEX BETA-HP U CIELĄT

### IMMUNOTROPIC EFFECT OF BIOLEX BETA-HP IN CALVES

Roman Wójcik<sup>1</sup>, Joanna Małaczewska<sup>1</sup>, Andrzej Krzysztof Siwicki<sup>1</sup>, Jan Miciński<sup>2</sup>,  
Grzegorz Zwierchowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: brandy@uwm.edu.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Hodowli Bydła i Oceny Mleka, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

Od wielu lat prowadzone są liczne badania laboratoryjne i kliniczne dotyczące skuteczności profilaktycznej i terapeutycznej preparatów modulujących układ odpornościowy różnych gatunków zwierząt. Na szczególną uwagę zasługują tu biostymulatory (preparaty pochodzenia naturalnego), które przede wszystkim można wykorzystywać w ekologicznej hodowli zwierząt, gdzie wymaga się absolutnej rezygnacji z suplementacji diety zwierząt syntetycznymi stymulatorami. Poza tym w hodowlach takich dąży się do metod nieinwazyjnego oddziaływania na organizmy zwierzęce, a więc podawania między innymi stymulatorów odporności, jeżeli jest to możliwe, w formie najbardziej wygodnej, tzn. w paszach. Istotną grupę stanowi tutaj  $\beta$ -1,3/1,6-D-glukan, zawarty m.in. w preparacie Biolex-Beta HP. Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu preparatu Biolex Beta-HP podawanego w paszy na wybrane parametry nieswoistej odporności komórkowej cieląt.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiło 14 cieląt, 1-miesięcznych, rasy polskiej holsztyńsko-fryzyskiej, które losowo przydzielono na 2 grupy po 7 zwierząt. Pierwsza grupa kontrolna bez dodatków żywieniowych oraz druga grupa badana, która otrzymywała przez 60 dni preparat Biolex Beta-HP w ilości 50 mg/kg masy ciała cieląt. Krew do badań pobierano z żyły jarzmowej przed dodaniem preparatu do karmienia oraz w 15., 30. i 60. dniu podawania preparatu, w celu oznaczenia i porównania kształtowania się wskaźników nieswoistej odporności komórkowej: badanie aktywności metabolicznej fagocytów na podstawie wewnątrzkomórkowego wybuchu tlenowego po stymulacji PMA metodą spektrofotometryczną RBA (Respiratory Burst Activity), badanie zdolności do wewnątrzkomórkowego zabijania przez komórki żerne metodą spektrofotometryczną PKA (Potential Killing Activity), badanie odpowiedzi proliferacyjnej limfocytów stymulowanych mitogenami (ConA oraz LPS) za pomocą metody spektrofotometrycznej MTT.

**Wyniki i omówienie:** W grupie badanej od 15. do 60. dnia eksperymentu obserwowano statystycznie istotny wzrost aktywności metabolicznej fagocytów krwi (RBA) w porównaniu z grupą kontrolną, co wskazuje na większą sprawność komórek fagocytujących, czyli skuteczniejszy wybuch tlenowy, a więc bardziej efektywną eliminację czynnika patogenego. Również w zakresie wewnątrzkomórkowej aktywności bójczej fagocytów krwi (PKA), między 15. a 60. dniem podawania preparatu, w grupie badanej stwierdzono statystycznie istotny wzrost wartości tego parametru w porównaniu z grupą kontrolną. Pozytywne działanie preparatu Biolex Beta-HP odnotowano także w zakresie aktywności proliferacyjnej limfocytów krwi (MTT) cieląt stymulowanych zarówno ConA, jak i LPS, która była w obu przypadkach statystycznie istotnie wyższa w grupie badanej niż w grupie kontrolnej przez cały okres doświadczenia. Odnotowano jednak różnice w zależności od zastosowanego mitogenu, i tak w przypadku ConA był to o połowę niższy wzrost aktywności proliferacyjnej limfocytów niż po podaniu LPS.



## WPŁYW HMB NA AKTYWNOŚĆ FAGOCYTARNĄ I METABOLICZNĄ LEUKOCYTÓW KRWI CIELĄT

### THE INFLUENCE OF HMB ON THE PHAGOCYTTIC ACTIVITY AND OXIDATIVE METABOLISM OF BLOOD LEUKOCYTES IN CALVES

Roman Wójcik<sup>1</sup>, Joanna Małaczewska<sup>1</sup>, Andrzej Krzysztof Siwicki<sup>1</sup>, Jan Miciński<sup>2</sup>, Grzegorz Zwierzchowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: brandy@uwm.edu.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Hodowli Bydła i Oceny Mleka, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn

Od kilku lat prowadzone są badania nad możliwością wykorzystania 3-hydroksy-3-metylomaślanu (HMB) na stan kondycyjny i zdrowotny zwierząt. Badania prowadzone na różnych gatunkach zwierząt wykazały, że HMB pełni istotną rolę w funkcjonowaniu układu odpornościowego, zwiększając odporność na choroby infekcyjne. Powoduje on również lepsze wykorzystanie składników pokarmowych w okresie wzrostu, zwiększenie zawartości białka mięśniowego oraz spadek poziomu cholesterolu. Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu HMB na aktywność fagocytarną i metaboliczną neutrofilów i granulocytów krwi cieląt.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiło 14 cieląt, 1-miesięcznych, rasy polskiej holsztyńsko-fryzyskiej, które losowo przydzielono na 2 grupy po 7 zwierząt. Pierwsza grupa kontrolna była żywiona według zasad przyjętych w gospodarstwie z zastosowaniem preparatu mlekozastępczego. Druga grupa badana, którą karmiono tak jak grupę kontrolną oraz dodatkowo przez 60 dni, otrzymywała HMB ( $\beta$ -Hydroksy- $\beta$ -Metylbutyrat) w ilości 40 mg/kg masy ciała cieląt. W 1., 15., 30. oraz 60. dniu trwania eksperymentu od wszystkich zwierząt pobrano krew z żyły jarzmowej w celu oceny parametrów nieswoistej odporności komórkowej. Aktywność fagocytarną granulocytów i monocytów określono metodą cytometrii przepływowej, używając zestawu Phagotest (GLYCOTOPE Biotechnology GmbH, Heidelberg). Metabolizm tlenowy monocytów i granulocytów (efektywność wybuchu oddechowego w pojedynczych komórkach) oceniono przy użyciu zestawu Bursttest (GLYCOTOPE Biotechnology GmbH, Pharma, Heidelberg). W obu zestawach oznaczeń dokonano zgodnie z zaleceniami i wskazaniem producenta.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie analizy uzyskanych wyników badania aktywności fagocytarnej granulocytów i monocytów stwierdzono statystycznie istotnie wyższą jej wartość w grupie cieląt traktowanych HMB niż w grupie kontrolnej, wyrażoną zarówno w postaci odsetka komórek fagocytujących, jak i średniej intensywności fluorescencji. Pozytywny efekt działania HMB wykazano również w stosunku do aktywności metabolizmu tlenowego granulocytów oraz monocytów, po stymulacji bakteriami *E. coli*, gdzie odsetek komórek pobudzonych oraz średnia intensywność fluorescencji były statystycznie istotnie wyższe w tej grupie zwierząt niż w grupie kontrolnej. Podobny efekt jak w przypadku stymulacji granulocytów i monocytów *E. coli* obserwowano po stymulacji PMA (silny aktywator wybuchu tlenowego), gdzie aktywność metabolizmu tlenowego granulocytów i monocytów, która mimo iż była w obu przypadkach wyższa w grupie cieląt stymulowanych HMB, niż w grupie kontrolnej, to jednak tylko w odniesieniu do odsetka granulocytów i monocytów pobudzonych odnotowano statystycznie istotny wzrost w grupie zwierząt stymulowanych tym preparatem niż w grupie kontrolnej. Natomiast po stymulacji granulocytów i monocytów mitogenem fMLP (słabszy aktywator wybuchu tlenowego), pomimo iż stwierdzono wyższe wartości wszystkich ocenianych parametrów w grupie stymulowanej HMB niż w grupie kontrolnej, to jednak tylko w przypadku średniej intensywności fluorescencji granulocytów oraz odsetka pobudzonych monocytów wykazano statystycznie istotne różnice.





## CHARAKTERYSTYKA MOLEKULARNA SZCZEPÓW *ESCHERICHIA COLI* IZOLOWANYCH OD KRÓW Z ZAPALENIEM GRUCZOŁU MLEKOWEGO

### MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *ESCHERICHIA COLI* STRAINS ISOLATED FROM COWS WITH MASTITIS

Ewa Zastempowska, Henryka Lassa, Hanna Markiewicz

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego w Bydgoszczy, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, e-mail: ewa.zastempowska@piwet.pulawy.pl

*Escherichia coli* zaliczana jest do patogenów środowiskowych *mastitis* krów i podobnie jak inne pałeczki Gram-ujemne izolowana jest przede wszystkim z klinicznych przypadków zapaleń gruczołu mlekowego, określanych nazwą *colimastitis*. Mleko krów jest jednym ze źródeł zakażenia shigatoksynicznymi szczepami *E. coli* (STEC), które spośród ogromnej liczby patogenów wywołujących *mastitis* stanowią największe zagrożenie dla zdrowia człowieka. Szczepy STEC na skutek wytwarzania cytotoksyn mogą wywoływać u ludzi groźne schorzenia, takie jak krwotoczne zapalenie jelita grubego i hemolityczny zespół mocznicowy. Większość szczepów izolowanych z przypadków chorobowych należy do grupy serologicznej O157 wytwarzającej antygen rzęskowy H7 (O157:H7) lub obejmującej szczepy nieruchliwe (O157:H-).

**Cel badań:** Określenie właściwości chorobotwórczych szczepów *E. coli* pochodzących z wydzieliny zapalnej wymienia krów oraz ocena występowania *E. coli* należących do serotypu O157.

**Materiał i metody:** Badaniom poddano 185 izolatów *E. coli*, które wyizolowano w latach 2010–2011 od krów z *mastitis clinica*, pochodzących z różnych regionów Polski. Identyfikację izolatów *E. coli* przeprowadzono na podstawie cech fenotypowych (morfologia kolonii na agarze z krwią, barwienie metodą Grama oraz posiew na podłoże MacConkeya) i biochemicznych (API 20E, bioMérieux). Izolaty testowano przy użyciu techniki PCR na obecność genów kodujących różne odmiany toksyny Shiga (geny *stx1*, *stx2*) i jej warianty (*stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*), białko adhezyjne intyminę (*eaeA*), enterohemolizynę (*hlyA*), dwóch genów warunkujących antygeny somatyczny (*rfbE<sub>O157</sub>*) i rzęskowy (*fliC<sub>H7</sub>*) serotypu O157:H7 oraz wysoce konserwatywnej substytucji w genie  $\beta$ -glukuronidazy (*uidA*).

**Wyniki i omówienie:** Spośród badanych izolatów *E. coli* w 3 stwierdzono obecność genów *stx* związanych z wytwarzaniem toksyny Shiga. Jeden izolat zawierał *stx1*, natomiast 2 pozostałe zawierały *stx2*. Nie wykryto genów kodujących warianty toksyny Shiga. W jednym izolacie wykazano obecność genów *eaeA* i *hlyA* kodujących odpowiednio intyminę i enterohemolizynę. Nie stwierdzono jednoczesnego występowania obu genów *rfbE<sub>O157</sub>* i *fliC<sub>H7</sub>*, które wskazywałyoby na przynależność badanych izolatów *E. coli* do serotypu O157:H7 oraz substytucji w genie *uidA* unikalnej dla serotypów O157:H7/H-. Jeden z badanych izolatów zawierał gen *rfbE<sub>O157</sub>*, natomiast 3 inne zawierały *fliC<sub>H7</sub>*. Uzyskane wyniki badań korespondują z wynikami otrzymanymi przez innych autorów i potwierdzają występowanie szczepów *E. coli* O157 oraz czynników patogennych, w tym toksyny Shiga, w bakteriach pochodzących z mleka krów z zapaleniem gruczołu mlekowego. Wskazują również na potrzebę monitorowania występowania szczepów STEC w mleku w celu podejmowania odpowiednich działań profilaktycznych.



## WPŁYW UTRATY CIĄŻY NA WYBRANE WSKAŹNIKI PŁODNOŚCI KRÓW MLECZNYCH

### THE EFFECT OF PREGNANCY LOSS ON SELECTED FERTILITY INDICES IN DAIRY COWS

Janusz Zbylut<sup>1</sup>, Marek Gehrke<sup>2</sup>, Edward Malinowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego, Al. Powst. Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz, e-mail: vetri@logonet.com.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Katedra Rozrodu Zwierząt i Ochrony Zdrowia Zwierząt, 85-084 Bydgoszcz, e-mail: mgehrke@utp.edu.pl

Straty ciąży u krów podczas pierwszego trymestru mogą być wysokie i wynoszą od kilku do kilkunastu procent, później odsetek ten znacznie się zmniejsza. Celem pracy była ocena wpływu utraty ciąży na dalszą płodność krów.

**Materiał i metody:** Analizie poddano 1056 ciąż i 906 OMW. SU było przeprowadzane przy użyciu komercyjnego, mrożonego nasienia w rui spontanicznej lub indukowanej. Pierwsze badanie na cielność przeprowadzano *per rectum*, z wykorzystaniem USG lub manualnie, najczęściej między 30. a 42. dniem po SU, jednak nie później niż 55. dnia. Ciążę potwierdzano między 70. a 90. dniem po SU. Przypadki, gdy ciąży zdiagnozowanych przy pierwszym badaniu nie potwierdzono w badaniu kontrolnym określano jako „wczesną utratę płodu”. Utraty ciąży notowano także później między 91. a 260. dniem po SU. Diagnozowanie takich przypadków opierało się na podstawie informacji o poronieniu lub dodatkowym badaniu na cielność krów, w których zaobserwowano ruję albo patologiczne wycieki z dróg rodnych. Brak, w określonym czasie, symptomów zbliżającego się porodu był również powodem do kontroli. Przypadki te tworzyły grupę krów z „późniejszą utratą płodu”. Krowy, u których przerwanie ciąży miało miejsce około 260. dnia, w okresie zasuszenia, najczęściej po poronieniu rozpoczynały nową laktację. Tę sytuację i grupę krów określano jako „późniejsza utrata płodu/nowa laktacja”. Krowy z dwoma lub trzema następującymi po sobie stratami, w jednej laktacji, tworzyły grupę z „wielokrotną utratą płodu”. Do obliczeń statystycznych wykorzystano analizę wariancji.

**Wyniki i omówienie:** OMW dla krów z prawidłowo przebiegającą ciążą wyniósł 442,9d. Wczesne, późniejsze i wielokrotne utraty płodów oraz nowe próby SU wydłużały OMW ( $P < 0.05$ ). Jednocześnie, OMW dla krów z wczesną utratą płodu był krótszy niż dla krów z późniejszą utratą płodu (579,6d vs. 661,1d;  $P < 0.05$ ). Do uzyskania ciąży potrzebnych było średnio 2,6 porcji nasienia. Każde przerwanie ciąży podwyższało indeks inseminacyjny. Istotne różnice stwierdzono po wczesnych i wielokrotnych utratkach płodów (5,2 i 5,1 w porównaniu z 2,6;  $P < 0,05$ ). Do grupy z późniejszą utratą płodu, rozpoczynających po poronieniu nową laktację, mogły należeć krowy z normalną, prawidłową długością ciąży, a „przedwczesny poród” mógł być konsekwencją błędów w zapisach terminu SU lub krowy inseminowane były ponownie na podstawie objawów sugerujących powtarzanie rui, tymczasem ciąża zawiązała się po wcześniejszym SU. Wskaźniki płodności dla tych krów były zbliżone do wskaźników uzyskanych przy terminowym porodzie. Konsekwencją późnych ronień lub martwo urodzonych cieląt były częstsze zatrzymania łożyska, pogorszenie płodności i zmniejszenie produkcji mleka w nowej laktacji. Dla krów z wcześniejszą utratą płodu stwierdzano wyższy wskaźnik poronień (14,5%) niż u krów bez historii związanej z utratą ciąży (12,14%). Innym negatywnym skutkiem utraty ciąży było endometritis, stwierdzane u 23,2% krów. Notowano je częściej, gdy utrata płodu miała miejsce w 3. niż w 1. i 2. trymestrze. Średni przedział czasowy od poronienia do pierwszej SU i zapłodnienia wynosił 63,4 i 101,8d. Był on dłuższy u krów z ciążą przerwana podczas 3. niż 1czy 2. trymestru.



## STEROIDY PŁCIOWE REGULUJĄ POZIOM BIAŁEK AUTOFAGICZNYCH W KOMÓRKACH NABŁONKA GRUCZOŁU MLEKOWEGO BYDŁA

### SEX STEROIDS REGULATE THE LEVELS OF AUTOPHAGY PROTEINS IN BOVINE MAMMARY EPITHELIAL CELLS

Katarzyna Zielniok, Tomasz Motyl, Małgorzata Gajewska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Katedra Nauk Fizjologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail:kasia.zielniok@gmail.com

Gruczoł mlekowy to narząd podlegający cyklicznej przebudowie, związanej z następującymi po sobie procesami wzrostu tkanki wydzielniczej i jej inwolucji. U bydła inwolucja gruczołu mlekowego ma charakter regeneracyjny z powodu równoległe zachodzących procesów mammogenezy stymulowanej hormonami ciążowymi oraz regresji starej tkanki na drodze programowanej śmierci komórek. Badania wykazały, iż jednym z procesów odpowiedzialnych za utrzymanie homeostazy w gruczole mlekowym krów jest autofagia. Podstawową funkcją autofagii jest degradacja białek o długim okresie półtrwania oraz zachowanie struktury organelli komórkowych w okresie stresu związanego z głodem lub hipoksją. W gruczole mlekowym proces ten może brać udział w kontroli różnicowania oraz śmierci komórek nabłonka wydzielniczego i uczestniczyć w regulacji ilości komórek eliminowanych w okresie inwolucji tego narządu. Wykazano, iż na intensywność autofagii mają wpływ hormony oraz czynniki wzrostu regulujące rozwój tego narządu. Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu steroidów płciowych:  $17\beta$ -estradiolu (E2) i progesteronu (P4) na ekspresję białek biorących udział w inicjacji oraz przebiegu procesu autofagii w komórkach nabłonka gruczołu mlekowego bydła linii BME-UV1.

**Materiał i metody:** Komórki linii BME-UV1 hodowane były na modelu „inwolucji *in vitro*”, z zastosowaniem obniżenia stężenia płodowej surowicy bydlęcej (FBS) z 10 do 0,5%, co naśladowało deficyt substancji odżywczych i bioaktywnych występujący w gruczole podczas inwolucji. Komórki z hodowli kontrolnej utrzymywane były w pożywce z 0,5% FBS przez 48 h, natomiast w warunkach doświadczalnych pożywkę dodatkowo suplementowano E2 (1nM) lub P4 (5 ng/ml). Analizę poziomu białek: bekliny1 (udział w aktywacji autofagii), Atg5, Atg3 oraz LC3 (udział w tworzeniu autofagosomów) przeprowadzono metodą Western-blot.

**Wyniki i omówienie:** Autofagia jest procesem silnie indukowanym przez komórki nabłonka gruczołu mlekowego bydła w warunkach obniżenia zawartości FBS w pożywce. Wykazano, że indukcja autofagii podlegała dodatkowemu wzmocnieniu w obecności  $17\beta$ -estradiolu i progesteronu, o czym świadczył wzrost poziomu białek uczestniczących w tym procesie. Otrzymane wyniki wskazują na bezpośredni wpływ podawanych steroidów na aktywność genów kodujących białka: beklina1, Atg5, Atg3 oraz LC3. W celu potwierdzenia tej hipotezy zastosowano inhibitory receptorów steroidowych: 4-hydroksytamoxifen (100 nM) – inhibitor receptora estrogenowego oraz RU486 (10 nM) – inhibitor receptora progesteronowego. Komórki BME-UV1 traktowano właściwym inhibitorem przez 1 h przed podaniem E2, lub P4 do pożywki. Zahamowanie receptora estrogenowego lub progesteronowego obniżyło poziom analizowanych białek autofagicznych do wartości kontrolnych albo poniżej nich, co potwierdza hipotezę o bezpośrednim wpływie zastosowanych steroidów płciowych na indukcję autofagii w komórkach BME-UV1. Otrzymane wyniki wskazują, że  $17\beta$ -estradiol i progesteron nie tylko uczestniczą w rozwoju nabłonka gruczołowego podczas mammogenezy [Lamote i wsp., 2004], ale również regulują przebudowę tkanki wydzielniczej podczas inwolucji tego narządu poprzez aktywację autofagii, umożliwiającą przetrwanie komórek nabłonkowych w okresie zmniejszonej podaży energetycznej w tym narządzie.

## SUPLEMENTACJA DAWEK POKARMOWYCH WYSOKO WYDAJNYCH KRÓW DODATKAMI TŁUSZCZU – WPŁYW NA POBRANIE PASZY ORAZ NA ZAWARTOŚĆ TŁUSZCZU I BIAŁKA W MLEKU

### FAT SUPPLEMENTATION OF HIGHYIELDING DAIRY COWS' RATIONS EFFECT ON FEED INTAKE AS WELL AS FAT AND PROTEIN CONCENTRATION IN MILK

Rafał Bodarski<sup>1</sup>, Stefania Kinal<sup>1</sup>, Janusz Orda<sup>1</sup>, Jerzy Preś<sup>1</sup>, Jan Twardoń<sup>2</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <sup>1</sup>Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa,  
e-mail: rafal.bodarski@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, e-mail: jan.twardon@up.wroc.pl

Zmniejszenie ujemnego bilansu energii w okresie pierwszych tygodni laktacji można uzyskać zwiększając ilość pobieranej paszy (DMI) lub na drodze podniesienia koncentracji energii w kg dawki pokarmowej. W praktycznym żywieniu krów mlecznych drugi sposób jest uzyskiwany poprzez stosowanie we wczesnej laktacji dodatków tłuszczowych lub pasz bogatych w tłuszczce. Celem pracy było zebranie najnowszych naukowych poglądów dotyczących takiego zabiegu żywieniowego na efekty produkcyjne wysoko wydajnych krów mlecznych.

**Wpływ rodzaju dodawanego tłuszczu na pobieranie pasz:** Po dodaniu tłuszczu do dawek dla krów obserwuje się często spadek DMI. Stymulowanie przez dodatek tłuszczu uwalniania cholecystokininy oraz zwiększania absorpcji i oksydacji kwasów tłuszczowych w wątrobie wyjaśnia mechanizm tego zjawiska. Natomiast dodatek tłuszczu nie obniża lipolizy tłuszczu zapasowego. Różnice w działaniu hypofagicznym różnych tłuszczów można próbować wyjaśnić na podstawie ich fizycznej i chemicznej charakterystyki oraz akceptacji przez krowy. Najgorzej tolerowane są mydła wapniowe oleju palmowego, natomiast inne tłuszcze pobierane są przez krowy dość chętnie. Niekiedy tłuszcz wywołuje nawet odwrotne działanie – zwiększa pobranie suchej masy przez krowy. Ma to miejsce, gdy zastępuje się nim zboża. Takie podstawienie redukuje hypofagiczny efekt działania propionianów (produktu fermentacji w żwaczu skrobi zbóż), gdyż w tym przypadku mniejszy jest ich dopływ do wątroby. Mniejszy jest również przyrost ciepła po pobraniu pokarmu. DMI i wydajność mleczna (FCM) u krów obniża się, gdy rośnie w dawce procent nienasyconych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Ten hypofagiczny efekt wyjaśnia się albo obniżeniem rozkładu włókna w żwaczu, albo metabolicznymi regulacjami pobrania pasz – nienasycone kwasy tłuszczowe absorbowane i utlenione w wątrobie dają uczucie sytości na zasadzie efektu metabolicznego paliwa.

**Wpływ dodatku tłuszczu na skład mleka:**

#### a. Spadek ilość tłuszczu w mleku – syndrom MFD (*Milk Fat Depression*)

Syndrom wywołują najczęściej dwa czynniki:

- związane z metabolizmem w gruczole mlekowym (zmniejszony dopływ octanów i betahydroksymaślanów),
- wzrost ilości kwasów tłuszczowych trans (CLA) w metabolizmie kwasu linolowego w żwaczu (produkt pośredni biouwodorowania do kwasu stearynowego).

**b. Wpływ na zawartość białka:** Suplementacja tłuszczu może prowadzić do zmniejszenia koncentracji białka w mleku. Tłuszcz zmniejsza stosunek przepływu krwi przez tkankę wymienia do ilości produkowanego mleka (krew wolniej przepływała i ilość aminokwasów *per saldo* na kilogram wydzielanego mleka jest mniejsza), co skutkuje obniżeniem zawartości białka w mleku. Przeciętnie zawartość białka w mleku spada o 0,03 punktu procentowego na każde 100 g pobranego dodatkowo tłuszczu. Spadek dotyczy frakcji kazeinowej, wpływ tłuszczu na białka serwatkowe jest niejednoznaczny, natomiast ilość związków azotowych niebiałkowych generalnie wykazuje tendencję wzrostową.

**Podsumowanie:** Od kilkunastu lat propaguje się w żywieniu krów wysoko wydajnych po ocieleniu dodatek tłuszczów roślinnych i innych jako uzupełnienie niedoboru energii. W świetle badań z ostatnich lat sprawa ta staje się procesem skomplikowanym i wymaga dokładnej analizy podawanego tłuszczu. Dodatek tłuszczu paszowego nie zawsze przynosi spodziewane efekty – może czasem pogarszać pobranie pasz i efekty produkcyjne.





## WPŁYW KWASU LIZOFOSFATYDOWEGO (LPA) NA PROCES DOJRZEWANIA *IN VITRO* OOCYTÓW BYDŁĘCYCH

### THE EFFECT OF LYSOPHOSPHATIDIC ACID (LPA) ON BOVINE OOCYTES *IN VITRO* MATURATION

Dorota Boruszewska<sup>1</sup>, Ana Catarina Torres<sup>2</sup>, Ilona Kowalczyk-Zięba<sup>1</sup>, Patricia Diniz<sup>2</sup>,  
Mariana Raposo<sup>2</sup>, Dariusz Jan Skarżyński<sup>1</sup>, Luis Lopes da Costa<sup>2</sup>, Izabela Woźniak-Potocka<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Polska Akademia Nauk, Olsztyn, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności,  
Zakład Immunologii i Patologii Rozrodu, e-mail: d.boruszewska@pan.olsztyn.pl

<sup>2</sup>CIISA, Lizbona, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Portugalia

Dwukierunkowa komunikacja pomiędzy oocytem a komórkami ziarnistymi pęcherzyka jajnikowego jest niezbędna w celu ustalenia prawidłowych funkcji obydwu typów komórek. Komórki wzgórka jajonośnego odpowiadają za kontakt oocytu ze środowiskiem i tym samym pośredniczą w regulacji procesu dojrzewania. Z drugiej strony, oocyt wpływa na proces ekspansji komórek ziarnistych poprzez sekrecję hormonów peptydowych i czynników wzrostu. Zatem, wzajemne interakcje w kompleksie oocyt-wzgórek jajonośny odpowiadają za prawidłowe dojrzewanie i osiągnięcie wysokiej kompetencji rozwojowej oocytu.

Celem przeprowadzonych badań było zbadanie wpływu LPA na proces dojrzewania *in vitro* oocytów bydłych wyrażony poziomem ekspresji mRNA dla markerów jakości oocytu w komórkach wzgórka jajonośnego otaczających dojrzewający oocyt (katepsyny (CTS)B, CTSK, CTSS i CTSZ) oraz w samym oocycie (foliatyna (FST), czynnik wzrostu i różnicowania (GDF-9), białko morfogenetyczne kości 15 (BMP-15)).

Materiał do badań stanowiły kompleksy oocyt – komórki wzgórka jajonośnego (COCs) uzyskiwane poprzez aspirację płynu pęcherzykowego pochodzącego ze wzrastających pęcherzyków jajnikowych (o średnicy 3–8 mm) od krów, niezależnie od fazy cyklu jajnikowego. COCs hodowano w obecności LPA w dawce 10<sup>-6</sup>M (grupa badana) lub PBS (grupa kontrolna). Po 24 godzinach dojrzewania *in vitro* oocytu odseparowywano mechanicznie od komórek wzgórka. Z uzyskanych komórek wyizolowano całkowite RNA, które z kolei posłużyło do odwrotnej transkrypcji i zsyntetyzowania cDNA. Otrzymane cDNA stanowiło matrycę w reakcji Real Time PCR w celu ilościowego oznaczenia ekspresji analizowanych genów.

W komórkach wzgórka jajonośnego otaczających oocyt podczas dojrzewania *in vitro* wykazano istotnie niższą ekspresję mRNA dla wszystkich badanych katepsyn: CTSB, CTSS (P<0,01) oraz CTSK i CTSZ (P<0,05) w grupie stymulowanej LPA w porównaniu z grupą kontrolną. Ponadto, LPA zwiększał (P<0,05) ekspresję mRNA dla FST, GDF9 oraz BMP15 w oocytach podczas dojrzewania *in vitro*. Wyniki uzyskane w doświadczeniu sugerują dodatni wpływ LPA dodawanego do medium do dojrzewania *in vitro* na proces dojrzewania oocytu wyrażony ekspresją markerów jakości oocytu w komórkach wzgórka jajonośnego oraz w samym oocycie. Podsumowując, LPA może zwiększać zdolność rozwojową oocytu w trakcie dojrzewania *in vitro* z jednej strony poprzez obniżanie ekspresji mRNA dla badanych katepsyn, a z drugiej poprzez stymulację ekspresji mRNA dla FST, GDF9 oraz BMP15. Można również podejrzewać, że LPA poprzez regulację ekspresji mRNA dla badanych markerów może wpływać na interakcje między komórkami wzgórka jajonośnego a oocytem.





## RÓŻNICE W PROFILACH TRANSKRYPTOMICZNYCH MIĘŚNIA SZKIELETOWEGO BYKÓW RAS O RÓŻNEJ UŻYTKOWOŚCI

### TRANSCRIPTIONAL DIFFERENCES BETWEEN DAIRY AND BEEF SKELETAL MUSCLE

Anna Ciecierska<sup>1</sup>, Jolanta Oprządek<sup>2</sup>, Tomasz Motyl<sup>1</sup>, Tomasz Sadkowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Fizjologicznych

<sup>2</sup> Polska Akademia Nauk, Jastrzębiec, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt

W ciągu ostatnich lat postęp genetyki molekularnej pozwolił na identyfikację genów wpływających na ilość i jakość mięsa zwierząt gospodarskich. Od wielu lat hodowcy bydła dążą do uzyskania osobników o szybkim i znacznym przyroście masy mięśniowej oraz o odpowiednim stosunku mięśni do tkanki tłuszczowej, co jest jednym z wyznaczników walorów jakościowych mięsa.

Dotychczasowe badania z zakresu transkryptomiki mięśni szkieletowych bydła wykazały istotne różnice w profilach ekspresyjnych genów w zależności od rasy i związanej z nią użytkowości.

**Cel badań:** Wytypowanie genów, których zmiany ekspresji w procesie różnicowania i dojrzewania tkanki mięśniowej są charakterystyczne dla buhajów ras mięsnych.

**Materiał i metody:** Materiałem służącym do badań był mięsień półścięgnisty, pochodzący od 15-miesięcznych buhajów rasy typowo mlecznej (holsztyńsko-fryzyskiejHF) oraz ras jednostronnie mięsnych (limousineLIM, herefordHER). Analizę ekspresji przeprowadzono z wykorzystaniem techniki mikromacierzy DNA. W tym celu z próbek wyizolowano całkowite RNA, a następnie poddano go trawieniu DNAzą i oczyszczaniu celem eliminacji zanieczyszczeń i pozbycia się genomowego DNA. Walidacja na poziomie RNA wyników uzyskanych metodą mikromacierzy DNA została przeprowadzona przy pomocy metody Real-time PCR. Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej przy użyciu programu GraphPad Prism5. Szczegółowa analiza danych prowadzona była z wykorzystaniem oprogramowania Gene Spring, Panther, DAVID i Pathway Studio.

**Wyniki i omówienie:** Badania ujawniły istotne statystycznie ( $P < 0,05$ ) różnice w ekspresji 160 genów, których ekspresja uległa, co najmniej 2-krotnej zmianie. Spośród zidentyfikowanych genów 116 przejawiało mniejszą, a 44 większą ekspresję u ras mięsnych w stosunku do mlecznej. Analiza ww. genów za pomocą dostępnej literatury i bazy danych Panther pozwoliła na ich sklasyfikowanie pod względem zaangażowania w procesy biologiczne. Ustalono 2 dominujące grupy genów zaangażowanych w procesy metaboliczne (63 geny) oraz procesy rozwojowe (34). W pierwszej grupie wyróżniono geny zaangażowane w procesy metaboliczne białek, wśród których 18 genów brało udział w proteolizie, a 14 w procesach modyfikacji białek. W drugiej z dominujących grup (procesy rozwojowe) 12 genów zaangażowanych było w rozwój mezodermy (*rnase4*, *l1cam*, *mstn*, *pcolce2*, *foxs1*, *fbln5*, *pcsk6*, *klf4*, *ltbp2*, *lmod2*, *vcam1*, *bcan*), w tym 4 geny bezpośrednio zaangażowane w rozwój tkanki mięśniowej (*l1cam*, *mstn*, *lmod2*, *vcam1*).

Według dostępnych danych literaturowych miostatyna (*mstn*) uważana jest za jeden z kluczowych czynników decydujących o masie mięśni szkieletowych, który jako negatywny regulator hamuje proliferację i różnicowanie komórek prekursorowych mięśni szkieletowych, a zatem ogranicza ostateczną liczbę komórek i włókien mięśniowych. Pozostałe zidentyfikowane geny mogą wywierać wpływ na rozwój tkanki mięśniowej, natomiast wiele z nich nie zostało dotychczas opisanych jako istotne w rozwoju mięśni szkieletowych. Niezbędne są dalsze badania w celu ustalenia możliwości zastosowania zidentyfikowanych genów jako markerów biologicznych do oceny cech ilościowych i jakościowych mięsa oraz w poszukiwaniu nowych kryteriów selekcji zwierząt w kierunku produkcji mięsnej.



## EFEKTYWNOŚĆ ROZPOZNAWANIA CIĄŻY BADANIEM REKTALNYM U BYDŁA MIĘSNEGO W ŚWIETLE OBSERWACJI WŁASNYCH

### EFFICIENCY OF MANUAL PREGNANCY DIAGNOSIS IN BEEF CATTLE BASED ON OWN OBSERVATIONS

Grzegorz Jakub Dejneka, Jan Twardoń, Jacek Mrowiec

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław, e-mail: grzegorz.dejneka@up.wroc.pl

W odróżnieniu od bydła mlecznego u ras mięsnych diagnoza cielenności napotyka na pewne obiektywne trudności. Po pierwsze: sezonowość rozrodu bydła sprawia, że bydło wiele miesięcy przebywa na pastwisku, gdzie trudno jest zaobserwować i zapisać każde pokrycie. Po drugie: badanie krów mięsnych wymusza ujarzmienie zwierząt – co wymaga dużego nakładu pracy i jest zwykle niemożliwe w warunkach pastwiskowych.

**Cel badań:** Analiza efektywności rozpoznawania ciąży u bydła mięsnego – zarówno w aspekcie samego potwierdzenia lub wykluczenia cielenności, jak i dokładności w określaniu stopnia zaawansowania ciąży.

**Materiał i metody:** Obserwacjami objęto bydło rasy Charolaise oraz mieszańce ras: Charolaise, Chianina i Red Angus zgrupowane w SBD Radomierz. W okresie zimowym zwierzęta przebywały w oborach, a od maja do listopada na pastwiskach zlokalizowanych w południowej części Gór Kaczawskich. W okresie pastwiskowym samice były kryte przez buhaje wprowadzane do stada – tzw. krycie wolne. Badanie na ciążę odbywało się w miesiącach grudzień – luty, a więc dopiero po listopadowym powrocie zwierząt z pastwiska. Cielenność diagnozowano tylko metodą transrektalnej palpacji, bez użycia ultrasonografu. Zwierzęta były odpowiednio ujarzmione, a osoby badające wykonywały swe czynności z platformy poruszanej przez ciągnik.

**Wyniki i omówienie:** Ogółem przebadano 457 krów i jałowic. Ciążę stwierdzono u 390 samic (u zdecydowanej większości była ona zaawansowana), a pozostałe 67 sztuk uznano za nieciążarne. Z tych ostatnich 3 krowy okazały się jednak cielne i urodziły zdrowe cielęta po 6–7 miesiącach. Spośród krów uznanych za cielne 4 samice poroniły, a u innych 5 sztuk nie odnotowano porodu. Dokładność w określaniu stopnia zaawansowania ciąży przedstawiała się następująco: 2. miesiąc ciąży – 88,8% bezbłędnych diagnoz, w 3. mies. – 82,3%, w 4. mies. – 70%, w 5. mies. – 57,1%, w 6. mies. – 48,5%, w 7. mies. – 28,7%, w 8. mies. – 54,5%, w 9–10. mies. – 73 %. Krowy mięsne mają bardzo mocny zwieracz odbytu, co niejednokrotnie owocować może dużym zmęczeniem i mniejszą precyzją w stawianiu diagnozy. Ciąże 5–7-miesięczne są u bydła dość trudne do badania ze względu na silne opuszczenie ciężarnej macicy i przykrycie jej przez trzewia. Jedynym pewnym symptomem cielenności jest w tym okresie wycucie brodawek macicznych w górnej części trzonu macicy [Youngquist 2007]. Wielkość tych tworów może być jednak niepewną wartością w określaniu stopnia zaawansowania ciąży. Decydują tu bowiem dość płynne różnice osobnicze, wynikające m.in. z wielkości i wieku zwierzęcia. Dodać należy, że u niektórych cielnych krów części twarde płodu wyczuwalne są już w 7. miesiącu, a u innych zaś dopiero w ósmym. Warto również pamiętać, że u starszych osobników (a takich jest przecież w stadach mięsnych zdecydowanie więcej niż w mlecznych przy obwisłym brzuchu i krótkiej krezce palpacja *per rectum* jest poważnie utrudniona.



## OCENA WYSTĘPOWANIA ZAKAŻEŃ NA TLE *MYCOPLASMA BOVIS* W KLINICZNYCH PRZYPADKACH SYNDROMU ODDECHOWEGO BYDŁA W KRAJU

### THE EVALUATION OF *MYCOPLASMA BOVIS* INFECTION PREVALENCE IN CLINICAL CASES OF BOVINE RESPIRATORY DISEASE IN POLAND

Katarzyna Dudek, Dariusz Bednarek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Chorób Bydła i Owiec, Aleja Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: katarzyna.dudek@piwet.pulawy.pl

Badania prowadzone w kierunku zakażeń *M. bovis* u bydła dowiodły chorobotwórczych właściwości tej bakterii, ściśle związanej zwłaszcza ze zmianami w obrębie układu oddechowego. Ocena obecności przeciwciał anti-*Mycoplasma bovis* w surowicy krwi bydła przeprowadzona w Polsce w latach 2007–2010 wykazała odsetek zwierząt serododatnich na poziomie 76,65%.

**Cel badań:** Określenie częstotliwości występowania zakażeń na tle *Mycoplasma bovis* w klinicznych przypadkach syndromu oddechowego bydła, diagnozowanych w 2011 r.

**Materiał i metody:** Łącznie przebadano 841 próbek surowic bydlęcych oraz 41 próbek wymazów z jamy nosowo-gardłowej i narządów wewnętrznych bydła pochodzących z różnych ferm na terenie sześciu regionów Polski (13 województw). Badane próbki pochodziły z klinicznych przypadków syndromu oddechowego bydła. Obecność specyficznych przeciwciał anti-*M. bovis* w badanych surowicach z oceną stopnia pozytywności (0–4+) została określona przy zastosowaniu pośredniego testu Elisa, natomiast izolację i identyfikację antygenu *M. bovis* z wymazów z jamy nosowo-gardłowej lub narządów wewnętrznych wykonano opierając się na bezpośredni test Elisa (Pulmotest).

**Wyniki i omówienie:** Wyniki badań własnych wykazały, że odsetek zwierząt serododatnich w populacji bydła w Polsce w 2011 r. wynosił 64,33%, z czego 12,94% stanowiły surowice wysoce dodatnie ( $\geq 2+$  stopnia pozytywności). Odsetek prób serododatnich w poszczególnych regionach Polski kształtował się następująco: region wschodni – 71,97%, region centralny – 52,74%, region południowy – 66,43%, region północno-zachodni – 64,09%, region północny – 56,52% oraz region południowo-zachodni – 58,82%. Najwyższy odsetek surowic dodatnich z puli wszystkich przebadanych surowic przypadał na województwo małopolskie (region południowy) i wynosił on 82,35%. Z puli 41 przebadanych próbek wymazów z jamy nosowo-gardłowej i narządów wewnętrznych bydła wykazano obecność antygenu *M. bovis* jedynie w płucach bydła pochodzącego z województwa zachodniopomorskiego (jeden izolat). Wyniki badań własnych wykazały, że problem zakażeń na tle *Mycoplasma bovis* u bydła jest w Polsce nadal aktualny, a seroprewalencja utrzymuje się w dalszym ciągu na wysokim poziomie.



## EPIDEMIOLOGIA WIRUSOWEGO ZAPALENIA STAWÓW I MÓZGU U KÓZ W POLSCE

### EPIDEMIOLOGY OF CAPRINE ARTHRITIS ENCEPHALITIS IN GOATS IN POLAND

Jarosław Kaba<sup>1</sup>, Martin Ganter<sup>2</sup>, Michał Czopowicz<sup>1</sup>, Mariusz Nowicki<sup>1</sup>, Lucjan Witkowski<sup>1</sup>,  
Dorota Nowicka<sup>1</sup>, Olga Szaluś-Jordanow<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: jaroslaw\_kaba@sggw.pl

<sup>2</sup>Tierärztliche Hochschule Hannover, Klinik für kleine Klauentiere, Hannover, Germany

<sup>3</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką

**Wstęp:** Wirusowe zapalenie stawów i mózgu kóz (*caprine arthritis encephalitis*, CAE) zostało zawleczone do wielu krajów wraz z importowanymi zwierzętami. Wydaje się, że podobną drogą choroba mogła trafić na początku lat dziewięćdziesiątych do Polski.

**Cel pracy:** Określenie dynamiki szerzenia się wirusowego zapalenia stawów i mózgu kóz w Polsce oraz ocena wpływu wybranych czynników ryzyka na ten proces.

**Materiał i metody:** Analizie poddano dane zebrane w trakcie trzech badań przeglądowych przeprowadzonych w stadach kóz objętych oceną użytkowości w Polsce (w 1996 r. – 76 stad, w 2002 – 68 stad i w 2007 – 49 stad). W każdym stadzie zebrano informacje na temat zakupu zwierząt z zagranicy i pobrano próbki krwi od reprezentatywnej próby zwierząt. Badania serologiczne wykonano za pomocą testów ELISA. Analizę statystyczną danych uzyskanych z wywiadów przeprowadzono za pomocą testu Chi-kwadrat ( $\alpha=0,05$ ) z wykorzystaniem programu IBM SPSS 19.0.0.

**Wyniki:** W okresie od 1996 do 2002 r. odsetek stad, w którym stwierdzono wirusowe zapalenia stawów i mózgu kóz, wzrósł ponad dwukrotnie (z 29,9 do 65,7%). W ciągu następnych pięciu lat choroba szerzyła się znacznie wolniej. W 2007 r. prewalencja wynosiła 71,9%. Import kóz był statystycznie istotnym czynnikiem ryzyka jedynie na początku epidemii. Serododatnie samce stanowiły zagrożenie w ciągu całego okresu obserwacji.

**Omówienie:** Przeprowadzone badania potwierdziły, że CAE mogło zostać zawleczone do Polski wraz z importowanymi zwierzętami, co jest zgodne z wcześniejszymi obserwacjami krajowymi i zagranicznymi. Od tego czasu choroba szerzy się w Polsce. Początkowo proces ten był bardzo szybki, z czasem znacznie stracił na dynamice. Obecnie choroba występuje powszechnie w stadach objętych kontrolą użytkowości kóz w Polsce. Badania wykazały, że w warunkach krajowych kozły przyczyniają się do rozprzestrzeniania choroby pomiędzy stadami. Obserwacja ta ma szczególne znaczenie ze względu na bardzo ograniczoną liczbę kozłów hodowlanych w Polsce. Wszystko to sprawia, że skuteczne zwalczanie CAE w kraju wydaje się być bardzo trudnym zadaniem.



## OCENA WARTOŚCI KLINICZNEJ MODELU DOŚWIADCZALNEGO OWCY Z EKSPERYMENTALNIE WYWOŁANĄ OSTEOPOROZĄ W BADANIACH NAD ZASTOSOWANIEM LEKÓW HAMUJĄCYCH RESORPCJĘ KOŚCI

### ASSESS OF THE CLINICAL VALUE OF THE EXPERIMENTAL MODEL OF A SHEEP WITH EXPERIMENTALLY INDUCED OSTEOPOROSIS IN THE STUDY OF THE USE OF DRUGS THAT INHIBIT BONE RESORPTION

Zdzisław Kielbowicz<sup>1</sup>, Jan Kuryszko<sup>2</sup>, Paweł Kafarski<sup>3</sup>, Janusz Bieżyński<sup>1</sup>,  
Maciej Kielbowicz<sup>1</sup>, Anita Piątek<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej <sup>1</sup>Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: [zdzislaw.kielbowicz@up.wroc.pl](mailto:zdzislaw.kielbowicz@up.wroc.pl); <sup>2</sup>Zakład Histologii i Embriologii ul. Kozuchowska 5, 51-631 Wrocław, e-mail: [jan.kuryszko@up.wroc.pl](mailto:jan.kuryszko@up.wroc.pl)

<sup>3</sup>Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, Zakład Chemii Bioorganicznej, ul. C. K. Norwida 4/6, 50-373 Wrocław, e-mail: [pawel.kafarski@pwr.wroc.pl](mailto:pawel.kafarski@pwr.wroc.pl)

**Wstęp:** Osteoporoza jest układową chorobą szkieletu, charakteryzującą się zmniejszeniem masy i struktury tkanki kostnej, skutkującą zmniejszoną wytrzymałością na urazy mechaniczne i prowadząc do zwiększenia ryzyka wystąpienia złamań patologicznych. Celem badania było opracowanie najbardziej optymalnej metody wywołania osteoporozy, diagnostyki i oceny stopnia zrzesztotnienia kości u owiec oraz wykazanie zmian histomorfologicznych w tkance kostnej po zastosowaniu bisfosfonianów suplementujących ubytki masy kostnej.

**Materiał i metody:** Praca jest częścią projektu E.I.Tplus nr POIG 01.01.02.02.003/08/WBC/5/I2010 „Terapia chorób cywilizacyjnych – innowacyjne leki przeciwrakowe i przeciw osteoporozie”. Doświadczenie przeprowadzono na owcach w wieku około 8 lat o wadze 40–50 kg m. c. Zwierzęta podzielono na dwie grupy po 5 sztuk, które poddano owarietomii i steroidoterapii oraz podawano bisfosfoniany. Do oceny zmian zachodzących w organizmach owiec utworzono grupę kontrolną pozytywną i negatywną po dwie sztuki. Wszystkie owce trzymano w takich samych warunkach bytowych po dwie sztuki w boksie o powierzchni 10 m<sup>2</sup> z ograniczeniem ich ruchu. U 12 owiec po 2 tygodniach od owarietomii podawano domięśniowo metyloprednizolon w dawce 150 mg/owcę 4-krotnie. Po 40 dniach od ostatniego podania leku sterydowego pobrano trefiną diamentową o średnicy 9 mm słupki kostne z talerza kości biodrowej do badań QCT, badań mikromorfologicznych i ultrastrukturalnych. Dla 10 owiec w dwóch grupach po 5 sztuk podawano dwa bisfosfoniany (ED38, ED49). Po 3 miesiącach obserwacji owce poddano eutanazji i wybrane kości przekazano do dalszych badań. Do badań histologicznych pobrano fragmenty kości udowej, ramieniowej, kręgu lędźwiowego oraz żuchwy. Materiał kostny barwiono według następujących metod: hematoksylina eozyna, barwienie van Gieson, barwienie Goldner-Masson, barwienie von Koss.

**Wyniki i omówienie:** Wykonanie u owiec owarietomii z późniejszą steroidoterapią metyloprednizolonem doprowadziło do osteoporozy i jest to bardzo dobry model doświadczalny służący do dalszych prób poszukiwania leków suplementujących ubytki hydroksyapatytu w kościach. Zastosowanie nowych bisfosfonianów w badaniach własnych przyniosło bardzo dobre rezultaty w leczeniu doświadczalnej osteoporozy u owiec i może przyczynić się do dużego postępu w leczeniu tej choroby cywilizacyjnej u człowieka.





## ADENOMYOSIS U KRÓW: MECHANIZM POWSTANIA I CZYNNIKI MODYFIKUJĄCE ROZWÓJ SCHORZENIA

## ADENOMYOSIS IN COWS: MECHANISM OF GENESIS AND FACTORS MODIFYING DEVELOPMENT OF DISEASE

Anna Korzekwa, Mamadou Bah, Dariusz Jan Skarżyński

Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk, Zakład Immunologii i Patologii Rozrodu, ul. Tuwima 10, 10-748 Olsztyn, e-mail: a.korzekwa@pan.olsztyn.pl

Adenomyosis macicy jest procesem chorobowym, który polega na proliferacji komórek gruczołowych z elementami zrębu w głąb macicy, aż do błony surowiczej błony mięśniowej. Istnieje kilka hipotez dotyczących patogenezы schorzenia. Jako proces zwyrodnieniowego zapalenia macicy (*chronic degenerative endometritis*) adenomyosis może rozwijać się w następstwie przebytych wcześniej stanów zapalnych błony śluzowej macicy. Etiologia adenomyosis u kobiet i samic zwierząt gospodarskich jest niejasna, jednak częściowo pozostaje spójna z endometriozą i dotyczy: transplantacji (komórki endometrium mogą rozprzestrzeniać się przez układ krwionośny lub limfatyczny), jatrogennej transplantacji (fragment endometrium może być przypadkowo przeniesiony podczas zabiegów chirurgicznych, porodu), metaplastji (komórki progenitorowe oraz macierzyste, odpowiednio stymulowane przekształcają się w inny rodzaj komórek, a bodźcem do przemiany mogą być steroidy oraz estrogeny), dziedziczenia, czynników kancerogennych oraz środowiskowych, zaburzeń autoimmunologicznych. Chociaż wskazano na czynniki zaangażowane w rozwój adenomyosis, mechanizm tworzenia gniazd gruczołowych postępujących do wnętrza błony śluzowej macicy nie jest znany.

**Cel badań:** Klasyfikacja patomorfologiczna macic krów w zależności od rozwoju schorzenia, korelacja rozwoju schorzenia z wiekiem, immunolokalizacja receptorów progesteronu (P4) i 17-beta estradiolu (E2) jako potencjalnych czynników wpływających na rozwój adenomiozy w macicy oraz ekspresja białka dla ww. czynników i określenie poziomu P4 oraz E2 we krwi obwodowej i w tkance macicy.

Materiał do badań stanowiły macice pobrane poubojowo od krów okresie 100–150 dni po porodzie (8.–12. dzień cyklu jajnikowego), bez *metritis* i *mastitis* oraz zmian patologicznych w obrębie jajników (badanie *per rectum* oraz USG bezpośrednio przed ubojem, N=60). Macice pochodziły od krów (2–7 laktacja), z rogu macicy przyległego do aktywnego jajnika (wiek krowy spisywano z paszportu). Krew do oznaczenia poziomu P4 i E2 (ELISA) pobierano bezpośrednio przed ubojem z żyły jarzmowej. Fragmenty macicy po uboju utrwalano w 4% paraformaldehydzie (barwienie preparatów H/E, immunohistochemia – P4 i E2) oraz w ciekłym azocie (ekstrakcja hormonów z tkanki – P4 i E2, ekspresja białka – western blotting).

Wykazano, że: adenomyosis występowała u 53% badanych krów (21% u krów w wieku 2–4 lata oraz 32% u krów powyżej 5 lat). Częstotliwość adenomiozy wzrastała z wiekiem krowy ( $P < 0,05$ ). Wyższą ekspresję receptora E2 i poziom E2 w tkance macicy zaobserwowano u krów adenomiotycznych ( $P < 0,05$ ), podczas gdy ekspresja receptora P4 oraz poziom P4 nie zmieniły się u krów zdrowych i adnomiotycznych ( $P > 0,05$ ). Receptory E2 zlokalizowano głównie w komórkach wokół gniazd gruczołowych w tkankach adenomiotycznych.

Wzrost ekspresji białka receptora E2 oraz poziomu E2 w tkance macicy wskazuje, iż głównie E2 reguluje procesy proliferacyjne w obrębie macicy krowy i może być jednym z czynników indukujących adenomiozę. Niezbędne są dalsze badania w celu wyjaśnienia molekularnego podłoża patogenezы adenomiozy.



## WPŁYW ZMIAN EKSPRESJI RECEPTORÓW LEPTYNOWYCH NA WYDZIELANIE SOMATOTROPINY PRZEZ KOMÓRKI PRZYSADKI MÓZGOWEJ OWIEC *IN VITRO*

### THE EFFECT OF CHANGES IN LEPTIN RECEPTOR EXPRESSION ON SOMATOTROPIN SECRETION FROM OVINE PITUITARY CELLS *IN VITRO*

Urszula Kosior-Korzecka, Paulina Radwańska, Katarzyna Witkowska, Ryszard Bobowiec

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Patofizjologii,  
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: urszula.korzecka@up.lublin.pl

Spadek wydzielania somatotropiny (GH) u osobników o genotypie *ob/ob* wskazuje na udział leptyny w regulacji wydzielania tego hormonu. W przypadku szczurów, świń i krów wykazano pobudzający wpływ leptyny na sekrecję GH w warunkach *in vitro*. Jednakże wyniki uzyskane podczas podobnych badań na owcach są niejednoznaczne. Ponadto, istnieją sprzeczne doniesienia odnośnie możliwości bezpośredniego oddziaływania leptyny na wydzielanie GH, poprzez krótką izoformę receptora (OB-Ra). Dlatego też, celem pracy było określenie wpływu leptyny oraz leptyny i ACTH, w stężeniu znoszącym ekspresję krótkiej izoformy receptora leptynowego ( $10^{-7}$  M/l) na wydzielanie somatotropiny przez komórki przysadki mózgowej owiec *in vitro*.

**Materiał i metody:** Przysadki pobrano poubojowo od maciorek wysokopiennej linii SCP. Komórki przedniego płata przysadki po izolacji poprzez trawienie 0,25 % trypsyną i uzyskaniu monowarstwy hodowano w:

- podłożu McCoy'a 5A bez hormonów (kontrola);
- podłożu McCoy'a 5A z leptyną w stężeniach:  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$  M/l;
- podłożu McCoy'a 5A z leptyną ( $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$  M/l) i ACTH ( $10^{-7}$  M/l).

Po 2, 24, 48 i 72 godz. zbierano podłoże w celu analizy stężenia somatotropiny metodą radioimmunologiczną oraz oznaczano indeks proliferacji komórek w celu obliczenia wydzielania GH w warunkach *in vitro*.

**Wyniki i omówienie:** Wpływ leptyny na wydzielanie GH uzależniony był od jej poziomu w podłożu hodowlanym. Hormon ten w stężeniach  $10^{-10}$ -  $10^{-6}$  pobudzał sekrecję somatotropiny w stosunku do kontroli. Najbardziej znaczący ( $p \leq 0,05$ ) wzrost wydzielania GH na wszystkich etapach doświadczenia stwierdzono po zastosowaniu leptyny w stężeniu  $10^{-9}$  M/l ( $1,01$  ng/ml/ $2,5 \times 10^5$  kom./72 godz., kontrola:  $0,23$  ng/ml/ $2,5 \times 10^5$  kom./72 godz.). Po ekspozycji komórek przysadki na  $10^{-5}$  M/l leptyny wykazano natomiast istotne ( $p \leq 0,05$ ) ograniczenie sekrecji somatotropiny ( $0,12$  ng/ml/ $2,5 \times 10^5$  kom./72 godz.) zarówno w porównaniu z kontrolą (j.w.), jak i hodowlą z leptyną w niższych stężeniach ( $10^{-10}$ - $10^{-6}$  M/l). Zahamowanie ekspresji krótkiej izoformy receptora leptynowego poprzez wprowadzenie do hodowli ACTH w stężeniu  $10^{-7}$  M/l zarówno po 2, 24, 48, jak i 72 godz., spowodowało znaczące ograniczenie pobudzającego wpływu leptyny na sekrecję somatotropiny. W obecności hormonu kortykotropowego, pomimo równoczesnego oddziaływania leptyny, stwierdzono spadek wydzielania GH w stosunku do hodowli z samą leptyną oraz w stosunku do kontroli. Stanowi to potwierdzenie, iż obserwowane zmiany w wydzielaniu GH są wynikiem oddziaływania leptyny. Pozwala to przypuszczać, iż zarówno otyłość, związana z wysokim poziomem leptyny, jak i stres, związany z wysokim poziomem ACTH redukującego ekspresję receptorów leptynowych, poprzez obniżenie wydzielania somatotropiny, mogą być przyczyną zaburzeń wzrostu oraz ograniczenia pozostałych, fizjologicznych efektów działania GH.



## POZIOMY WYBRANYCH PARAMETRÓW KRWI U KRÓW W TRZECIEJ I KOLEJNYCH LAKTACJACH POCHODZĄCYCH OD MATEK Z KLINICZNYM NIEDOBOREM WAPNIA. RAPORT WSTĘPNY

### LEVELS OF CHOSEN PARAMETERS OF BLOOD IN DAIRY COWS IN THIRD AND NEXT LACTATION FROM MOTHER – COWS WITH CLINICAL HYPOCALCAEMIAE

Łukasz Kurek<sup>1</sup>, Krzysztof Lutnicki<sup>1</sup>, Agnieszka Banach<sup>1</sup>, Mirosław Kleczkowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Zakład Chorób Wewnętrznych Zwierząt Gospodarskich i Koni, Głęboka 30, 20-612 Lublin

<sup>2</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Warszawa, ul. Nowoursynowska 150c

**Wstęp:** Doskonalenie profilaktyki i materiału genetycznego wyeliminowało w dużym stopniu typowe objawy kliniczne schorzeń niedoborowych, ale stany podkliniczne i zmiany powodujące zaburzenia w rozrodzie i produkcji pozostały w dalszym ciągu problemem w stadach bydła mlecznego. Szczególnie hipokalcemia: subkliniczna, szczytu laktacji czy nawet porażenie poporodowe, mimo intensywnych działań zootechniczno-lekarskich, są ciągle częstym powodem gorszej wydajności mlecznej w wielu gospodarstwach. Wieloletnie własne obserwacje i badania kliniczne w stadach bydła mlecznego wykazały częstsze występowanie schorzeń metabolicznych u krów pochodzących od matek z niedoborami makroelementów w wywiadzie. Zaburzenia mineralne u bydła, szczególnie hipokalcemia najwyraźniej objawiają się u krów po drugiej i trzeciej laktacji.

**Cel badań:** Określenie poziomów zawartości wapnia, fosforu, magnezu, aktywności AST, AP i zawartości kreatyniny w surowicy krów pochodzących od matek z klinicznym niedoborem wapnia w wywiadzie.

**Materiał i metody:** Badaniami i analizami biochemicznymi w latach 2005–2010 objęto 60 sztuk bydła rasy HF z kilkunastu stad z terenu centralnej Lubelszczyzny, w trzeciej, czwartej i piątej laktacji (4.–6. tydzień) w odniesieniu do zwierząt pochodzących od krów bez zaburzeń metabolicznych (grupa kontrolna). Zwierzęta te cechowały się średnim lub dobrym stanem odżywienia i dobrą wydajnością mleczną powyżej 30 litrów na dzień w okresie szczytu laktacji. W gospodarstwach występował bardzo zbliżony program żywienia uzależniony od wydajności mlecznej i okresu fizjologicznego poszczególnych krów. Przed rozpoczęciem badań przeprowadzono pełne badanie kliniczne, oceniono sposób zadawania i rodzaj karmy oraz wydajność mleczną. W grupie doświadczalnej i kontrolnej nie stwierdzono klinicznych postaci chorób metabolicznych w okresie pobierania materiału do badań.

**Wyniki i omówienie:** W pierwszym pobraniu krwi wykonanym pomiędzy 4. i 6. tygodniem trzeciej laktacji w badanej grupie krów stwierdzono następujące średnie wartości analizowanych parametrów: wapń – 8,29 mg/dl; magnez – 2,9 mg/dl; fosfor – 4,6 mg/dl; AST – 112,6 U/l; AP – 99,7 U/l; kreatynina – 1,55 mg/dl. W grupie kontrolnej otrzymano odpowiednio następujące wyniki: Ca 8,78 mg/dl; Mg 2,3 mg/dl; P 5,7 mg/dl; AST 88,6 U/l; AP 90,7 U/l; Crea 1,68 mg/dl. Parametry badane w czwartej i piątej laktacji w obu grupach były podobne. W każdej laktacji średnie wartości wapnia i fosforu w grupie badanej były istotnie statystycznie niższe niż w grupie kontrolnej, a poziom magnezu był statystycznie istotnie wyższy w grupie doświadczalnej. Subkliniczna hipokalcemia wystąpiła u wszystkich osobników z grupy badanej, a dodatkowo około 20% zwierząt było dotkniętych subkliniczną hipofosforemią i hipermagnezem. Aktywność AST była wyraźnie wyższa u krów pochodzących od matek z zaburzeniami klinicznymi (hipokalcemia), ale nie wykazywała istotnej statystycznie różnicy. Aktywność AP i kreatyniny w obu grupach utrzymywała się w granicach przyjętych norm przez cały okres badań.

**Wnioski:** Wstępne wyniki badań wykazały subkliniczne zaburzenia, które mogą w przyszłości prowadzić do rozwoju chorób metabolicznych. Potwierdza to kliniczne obserwacje częstszych zachorowań krów pochodzących od matek z zaburzeniami w poziomach makroelementów. Natomiast wysokie aktywności AST mogą być następstwem zaburzeń wątrobowych, a w konsekwencji nieprawidłowości hormonalnych odpowiedzialnych za homeostazę makroelementów.



## ZAKAŻENIE ATYPOWYM PESTIWIRUSEM U BYDŁA – ZNACZENIE DLA KONTROLI I ZWALCZANIA WIRUSA BIEGUNKI BYDŁA I CHOROBY BŁON ŚLIZOWYCH (BVD-MD)

### INFECTION OF CATTLE WITH ATYPICAL PESTIVIRUS – SIGNIFICANCE TO CONTROL AND ERADICATION OF BOVINE VIRAL DIARRHEA AND MUCOSAL DISEASE VIRUS (BVD-MD)

Magdalena Larska<sup>1</sup>, Mirosław Paweł Polak<sup>1</sup>, Stefan Alenius<sup>2</sup>, Åsse Uttenthal<sup>3</sup>,  
Jan Franciszek Żmudziński<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Wirusologii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: m.larska@piwet.pulawy.pl

<sup>2</sup>Department of Clinical Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), BOX 7054, SE-750 07 Uppsala

<sup>3</sup>National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Lindholm, 4771 Kalvehave

W ostatnich latach rośnie liczba wykrywanych atypowych pestiwirusów bydłych spokrewnionych z wirusem BVD-MD. Pierwszy raz atypowy pestiwirus nazwany Hobi odkryto w płodowej surowicy bydłej (FBS) produkowanej komercyjnie do hodowli komórkowych [Schirrmeier i wsp., 2004]. Inni badacze potwierdzili obecność podobnych wirusów u bydła w Ameryce Południowej, a następnie stwierdzono zakażenia podobnymi wirusami w Tajlandii [Ståhl i wsp., 2007]. Podejrzewa się, że wirus może się szerzyć na inne kontynenty [Xia i wsp., 2012]. Ostatnio jego obecność potwierdzili Włosi w stadach rodzimego bydła, a przypadki zakażeń przebiegały z upadkami cieląt i poronieniami krów. Podejrzewa się, że kontaminacja atypowymi pestiwirusami FBS, szczepionek czy innych biopreparatów pochodzenia bydłowego jest równie rozpowszechniona jak wirus BVD-MD. Odrębność genetyczna i antygenowa atypowych pestiwirusów od BVD-MD, utrudnia lub wręcz uniemożliwia wykrycie tych pierwszych przy stosowaniu tradycyjnych metod diagnostycznych. Celem badań było określenie patogenności atypowego pestiwirusa dla bydła rodzimego oraz opracowanie metod diagnostycznych pozwalających na wykrycie zakażeń tym wirusem.

**Materiał i metody:** Do zakażenia użyto 20 cieląt w wieku 3–5 miesięcy. Zwierzęta podzielono na cztery grupy, które następnie inokulowano: 1) szczepem Th/04\_KhonKaen atypowego pestiwirusa; 2) szczepem Horton 916 wirusa BVD-MD typu 1, 3) obydwoma szczepami jednocześnie; 4) jałowym płynem Eagle'a do hodowli komórkowej (kontrola ujemne). Próbkę krwi i wymazy pobierano kilkakrotnie od dnia przed inokulacją do 42. dnia po zakażeniu oraz codziennie monitorowano zachowanie i ciepłotę wewnętrzną zwierząt. Odpowiedź immunologiczną oceniano na podstawie testów serologicznych. Do oceny wirerii i siewstwa wirusa posłużyły testy izolacji wirusa w hodowli komórkowej i real-time RT-PCR.

**Wyniki i omówienie:** Zakażenie atypowym pestiwirusem u cieląt miało charakter subklinicznym z nieznacznie podwyższoną temperaturą. Stopień nasilenia leukopenii i limfocytopenii u wszystkich zakażonych grup był podobny i skorelowany z wiramią trwającą od 2.–7. dnia po zakażeniu do serokonwersji, która nastąpiła w dwa tygodnie po zakażeniu. Obecność wirusowego RNA we krwi i w wymazach z nosa u cieląt zakażonych szczepem Th/04\_KhonKaen przedłużona była nawet do 28. dnia po zakażeniu. Atypowe pestiwirusy bydłowe stanowią zagrożenie dla zdrowia bydła i mogą utrudniać skuteczne zwalczanie BVD-MD w Polsce.



## ALTERNATYWNE MOETODY INSEMINACJI U BYDŁA

### ALTERNATIVE TECHNIQUES OF INSEMINATION IN CATTLE

Jacek Mrowiec, Jan Twardoń, Grzegorz J. Dejneka, Roland Kozdrowski

*Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław*

Współczesna hodowla bydła mlecznego zawdzięcza w znacznej mierze swój rozwój postępowi biotechnologii rozrodu, włączając w to przede wszystkim techniki konserwacji nasienia, jego porcjowania, przechowywania oraz zabieg sztucznego unasienniania. Przeprowadzone przez Petersa i wsp. badania wykazały jednak, że tylko 39% z 586 sprawdzonych inseminacji, wykonanych przez profesjonalnych inseminatorów, zostało zakończonych wprowadzeniem nasienia do trzonu macicy. Dodając do tego straty wynikające z zaburzeń funkcjonowania narządu płciowego oraz straty zarodkowe, uzyskujemy często wskaźnik zapłodnialności kształtujący się na poziomie poniżej 50%. Dlatego prowadzane są badania nad zastosowaniem alternatywnych technik sztucznego unasienniania bydła, stosowanych już wcześniej w medycynie ludzkiej i u innych gatunków zwierząt. Celem niniejszej publikacji jest przybliżenie metod inseminacji dopęcherzykowej i dootrzewnowej.

Technika inseminacji dootrzewnowej znana jest już prawie od 60 lat. Idea tej metody bazuje na założeniu, iż plemniki mogą osiągnąć miejsce zapłodnienia komórki jajowej również z jamy otrzewnowej. Na przestrzeni lat metodą tą udało się uzyskać ciążę u całego szeregu gatunków: krów, owiec, kóz, królików, świnek morskich, szynszyli, świń, naczelnych, w tym u człowieka. Zasadniczo istnieją dwie podstawowe drogi wykonania zabiegu: wkłucie przez sklepienie pochwy i wprowadzenie nasienia na trzon macicy oraz iniekcja przez powłoki brzuszne i depozycja nasienia w okolicy jajników pod kontrolą ultrasonografu bądź laparoskopu. U bydła preferowana jest metoda pierwsza, gdyż jest łatwiejsza w wykonaniu, do kontroli wystarczy jedynie badanie manualne przez prostnicę, a co najważniejsze, uzyskano nią lepsze rezultaty.

Pierwszy zakończony sukcesem zabieg inseminacji dopęcherzykowej u bydła został opisany przez Lopeza i Huntera w 2011 r. Idea metody polega na wprowadzeniu nasienia bezpośrednio do pęcherzyka przedowulacyjnego. Wykorzystanie techniki inseminacji dopęcherzykowej w doświadczeniach Lopeza i Huntera umożliwiło uzyskanie wskaźnika zapłodnialności na poziomie 23,5%. Porównując, w grupie kontrolnej w której krowy były inseminowane, konwencjonalnie uzyskano jedynie 9%. Jak dotąd nieznane są mechanizmy oraz miejsce kapacytacji i zapłodnienia w przypadku inseminacji dopęcherzykowej. Lopez i Hunter sugerują, iż dochodzi do tego w obrębie jajowodu po wydostaniu się komórki jajowej oraz plemników z pęcherzyka podczas owulacji.

Obie omawiane techniki inseminacyjne wymagają jeszcze wielu badań oraz udoskonalenia, jednakże na obecnym etapie wiedzy można stwierdzić, iż są pewną alternatywą w stosunku do konwencjonalnych metod unasienniania. Możliwe, że w przyszłości stanowiąc będą cenne narzędzie w rękach lekarzy weterynarii w walce z zaburzeniami płodności u bydła.





## MOŻLIWOŚCI PROFILAKTYCZNE I TERAPEUTYCZNE DIMERU LIZOZYMU (LYDIUM-KLP) WOBEC WSPÓŁCZESNYCH ZAGROŻEŃ ZWIĄZANYCH Z EKSPANSJĄ BUNIAWIRUSÓW

### PROPHYLACTIC AND THERAPEUTIC POTENTIAL OF LYSOZYME DIMER (LYDIUM-KLP) IN RELATION TO PRESENT-DAY THREATS CONNECTED WITH THE EXPANSION OF BUNIAVIRUSES

Grzegorz Nowak

Grupa Remedia Veterinaria, Parsko,  
e-mail: remedia.veterinaria@parsko.pl

Pod koniec zeszłego roku, po stwierdzeniu w Europie nowego chorobotwórczego wirusa, stało się głośno o mało znanych do tej pory buniawirusach. Od miejsca pierwszej izolacji w Niemczech nazwany został Schmallenberg (SBV). Porównanie materiału genetycznego pozwoliło zaklasyfikować go do rodzaju *Orthobunyavirus* i serogrupy Simbu. Wirusy te występują m.in. w Australii, Afryce oraz Azji i wywołują infekcje, zwykle klinicznie manifestowane u przeżuwaczy. Analiza właściwości i budowy wirusa SBV wskazuje, że powinien być wrażliwy na działanie zdimeryzowanego lizozymu (Lydium-KLP).

W powszechnym przekonaniu buniawirusy są egzotycznymi patogenami przeżuwaczy. Serogrupę Simbu tworzy 25 gatunków wirusów, wśród których najbardziej znane są Aino, Akabane i Shamonda (SHAV). Badania przeprowadzone w różnych częściach świata sygnalizują wysoki odsetek infekcji nie tylko u przeżuwaczy, ale także u innych zwierząt. Niepokojące sygnały płyną z Afryki, gdzie po raz pierwszy doszło do przełamania granicy gatunkowej przez buniawirusa Shuni (SHUV), uważanego dotychczas za „typowego” patogena dla przeżuwaczy. W RPA potwierdzono już kliniczne przypadki zapalenia mózgu u koni wywołanego SHUV.

Buniawirusy przenoszone są przede wszystkim przez stawonogi; w Europie są to głównie kuczmany i komary. Te pierwsze zdają się odgrywać kluczową rolę, a miano jednego z największych zagrożeń epizootycznych ostatnich lat zyskał *Culicoides imicola*, uważany za głównego winowajcę transferu wirusa BTV z Afryki na Stary Kontynent. W Polsce obecne są przede wszystkim dwa gatunki: *C. obsoletus* (70%) i *C. punctatus* (29,6%). Zagrożenie kuczmanami nie polega tylko na przenoszeniu patogenów. Już samą swoją obecnością wywołują niepokój wśród zwierząt, a u uczulonych osobników są przyczyną zmian skórnych bądź nadwrażliwości, często poważnej w skutkach; np. nadwrażliwość na ukłucia kuczmanów u koni (CHS), będących ważnym rezerwuarem buniawirusów. Przy okazji może dojść do powikłań innymi „egzotycznymi” patogenami, jak np. *Sporothrix schenckii*. Chorobotwórczość buniawirusów potęgowana jest przez mechanizmy, blokujące niektóre elementy wewnątrzkomórkowej ochrony, w tym interferon (INF). Buniawirusy posiadają zdolność hamowania sekrecji endogennego INF. Odpowiedzialna za to jest niestrukturalna proteina NSs. Za kodowanie NSs odpowiada genom zawarty w segmencie S. Ponieważ obszar ten u SBV jest prawie w 100% zgodny z analogicznym segmentem SHAV, należy spodziewać się kodowania przez genom SBV protein o podobnych właściwościach do NSs SHAV.

Dimer lizozymu (LD) jest polimerem naturalnej muramidazy białka jaja kurzego. Wykazuje aktywność wyjściowego substratu, natomiast całkowicie pozbawiony jest jego biotoksyczności. Niektóre właściwości LD polegają na zwiększeniu odporności naturalnej i przypominają działanie INF. Bezpośrednie niszczenie wirusa odbywa się poprzez łączenie dodatnich cząsteczek LD z ujemnie spolaryzowanymi kwasami nukleinowymi wirusa i tworzenie nieaktywnych elektrostatycznych kompleksów. Zakładając, że SBV wytworzył mechanizm hamowania IFN, można zalecać dimer lizozymu do pobudzenia produkcji endogennego INF typu I i II. Działanie LD powinno być dwutorowe: poprzez zwiększenie wytwarzania IFN $\alpha$  w komórkach wolnych od wirusa oraz stymulację sekrecji IFN $\gamma$ , niepodlegającego blokowaniu przez NSs. SBV posiada jednoniciowy, ujemnie spolaryzowany RNA. Pod tym względem przypomina niektóre wirusy o ujemnym RNA, np. wirus grypy (A/Sichuan), odry czy Sendai, które *in vivo* są w pełni wrażliwe na działanie dimeru lizozymu. Na zasadzie ekstrapolowania można przypuszczać, że podobnie zbudowane buniawirusy będą również podatne na działanie zdimeryzowanego lizozymu.



## ZAKAŻENIA LENTIWIURUSAMI MAŁYCH PRZEŻUWACZY W POLSCE ORAZ MOLEKULARNA CHARAKTERYSTYKA TYCH PATOGENÓW

### LENTIVIRUSES INFECTIONS IN SMALL RUMINANT IN POLAND AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THESE PATOGENS

Monika Olech<sup>1</sup>, Zbigniew Osiński<sup>2</sup>, Jacek Kuźmak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Biochemii,

<sup>2</sup>Zakład Higieny Pasz, Al. Partyzantów 57, 24-100, Puławy, e-mail: monika.olech@piwet.pulawy.pl

Według obowiązującej klasyfikacji lentiwirusy małych przeżuwaczy (SRLV) stanowią odrębną grupę w obrębie rodzaju *Lentivirus*, rodziny *Retroviridae*. Zakażenia tymi wirusami u owiec wiążą się z wymiernymi skutkami ekonomicznymi. Wprawdzie forma kliniczna choroby najczęściej występuje u owiec starszych i stałą tendencją na świecie jest występowanie zakażeń bezobjawowych, w stadach w których stwierdza się zakażenia, notuje się pogorszenie kondycji zwierząt, obniżenie przyrostów masy ciała, rodzenie słabszych jagniąt. Obecność wirusa u starszych osobników wiąże się z częstszym występowaniem zapaleń gruczołu mlekowego i zmianami zapalnymi w stawach. W niektórych przypadkach zakażeniom towarzyszą zmiany w ośrodkowym układzie nerwowym.

W Polsce, podobnie jak w innych krajach, nie stosuje się powszechnych programów zwalczania, stąd wiedza o stopniu występowania zakażeń SRLV jest ograniczona.

Pierwszym celem badań było określenie stanu epidemiologicznego zakażeń SRLV w Polsce. Drugi cel stanowiło zbadanie stopnia zmienności genetycznej izolatów SRLV występujących u owiec i kóz w Polsce.

**Materiał i metody:** Badania serologiczne przeprowadzono na terenie całej Polski. Ogółem zbadano 9072 próbek surowicy uzyskanych od zwierząt pochodzących z 1028 stad. Obecność przeciwciał dla SRLV oznaczono testem ELISA, wykorzystując zestaw diagnostyczny firmy Institut Pourquier (Francja). Możliwości diagnostyczne testu ELISA, związane z takimi parametrami jak czułość i swoistość, oceniono poprzez wyznaczenie wartości predyktywnej ujemnej (NPV) i dodatniej (PPV). W odniesieniu do analizy stad stopień niepewności związany z ich różną liczebnością został określony poprzez aproksymacje rozkładami Beta, za pomocą programu BetaBuster. W badaniach dotyczących występowania zakażeń u indywidualnych osobników, w celu uwzględnienia wpływu niedoskonałości testu ELISA oraz możliwych błędów związanych z różną liczbą badanych próbek na wiarygodność wyników, zastosowano modelowanie z wykorzystaniem metody Bayesa. W efekcie uzyskano wartości odnoszące się do rzeczywistego poziomu występowania swoistych przeciwciał, tzw. *true prevalence* (TP). Analizę filogenetyczną 12 wyselekcjonowanych terenowych izolatów SRLV przeprowadzono na podstawie dwóch fragmentów genu *env* o długości 608 pz i 394 pz oraz fragmentu genu *gag* o długości 467 pz.

**Wyniki i omówienie:** Najwyższy rzeczywisty poziom występowania swoistych przeciwciał (TP) wykryto w województwie małopolskim (38,9%), dolnośląskim (27,2%) oraz kujawsko-pomorskim (27,4%). Rzeczywisty poziom występowania swoistych przeciwciał w województwie warmińsko-mazurskim wynosi 20,3%, podkarpackim – 18,8%, wielkopolskim – 18,5% oraz pomorskim – 17%, podlaskim – 14,2%, śląskim – 12,5%, zachodnio-pomorskim – 11,3%, opolskim – 8,8%, świętokrzyskim – 8,3%. Najmniejszy wskaźnik zakażeń odnotowano w województwie lubelskim – 2,2%, łódzkim – 1,9%, mazowieckim – 0,4% oraz lubuskim – 0%. Wykazano także, że istnieje silna korelacja między zakażeniem MVV a wielkością stada. Liczebniejsze stada owiec charakteryzowały się zdecydowanie większą ilością zwierząt wykazujących odczyn serologicznie dodatnie.

Analiza filogenetyczna sekwencji fragmentów genu *env* i fragmentu genu *gag* wykazała, że polskie izolaty należą do pięciu podtypów: B1, B2, A1 oraz dwóch nowych podtypów grupy A (A12 i A13), które są reprezentowane wyłącznie przez polskie izolaty. Badania potwierdziły także, że koza 90472 jest zakażona zarówno wirusem należącym do grupy A, jak i wirusem należącym do grupy B.



## CHARAKTERYSTYKA MOLEKULARNA IZOLATÓW WIRUSA BIAŁACZKI BYDŁA (BLV) WYSTĘPUJĄCYCH U BYDŁA W POLSCE ORAZ POCHODZĄCEGO Z EUROPY WSCHODNIEJ I ZACHODNIEJ SYBERII

### MOLECULAR CHARACTERIZATION OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS ISOLATES (BLV) OCCURRING IN CATTLE IN POLAND AND ORIGINATING FROM EASTERN EUROPE AND WESTERN SIBERIA

Marzena Rola-Łuszczak, Aneta Pluta, Monika Olech, Jacek Kuźmak

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Biochemii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mrolka@piwet.pulawy.pl

Wirus białaczki bydła (Bovine Leukemia Virus – BLV) należy do rodzaju *Deltaretrovirus* rodziny *Retroviridae*. Ostatnie badania wykazały, że BLV można sklasyfikować w siedmiu odrębnych genotypach. Podział na poszczególne grupy filogenetyczne oparto na pełnej sekwencji genu *env* kodującego glikoproteinę powierzchniową gp51. Klasyfikację przeprowadzono na dostępnych sekwencjach izolatów BLV reprezentowanych głównie przez populację wirusa krążącego u bydła pochodzącego ze Stanów Zjednoczonych i Ameryki Południowej.

Dotychczas brak jest kompleksowych badań skupiających się na genetycznej charakterystyce i klasyfikacji izolatów BLV obecnych u bydła z Europy Wschodniej i Syberii. Celem pracy była analiza molekularna izolatów wirusa występujących u bydła pochodzącego z różnych regionów geograficznych Polski, Białorusi, Ukrainy i Rosji.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło DNA wyizolowane z leukocytów krwi obwodowej 44 krów naturalnie zakażonych BLV. Obecność zakażenia BLV potwierdzono testem AGID lub ELISA. Analizę filogenetyczną i analizę aminokwasową przeprowadzono w programie Geneious opierając się na produktach nested PCR. Drzewa klasyfikacyjne zbudowano metodami Bayesa i Neighbour Joining.

**Wyniki i omówienie:** Analiza filogenetyczna oparta na fragmencie genu *env* o długości 444bp wykazała, że większość badanych izolatów należy do genotypu 4 i 7. W obrębie genotypu 4 sklasyfikowano 25 izolatów, natomiast w obrębie genotypu 7 zidentyfikowano 15 izolatów, w obu przypadkach pochodziły one z Polski, Białorusi, Ukrainy i Rosji. Ponadto zidentyfikowano nowy genotyp 8, co zostało poparte wysokimi wartościami prawdopodobieństw *a posteriori* (Bayes) i wartościami bootstrap (NJ) w analizie filogenetycznej. Genotyp ten reprezentowały 4 izolaty BLV z Ukrainy. Analiza sekwencji aminokwasowych poszczególnych izolatów wykazała liczne substytucje. Co ciekawe, 71% spośród nich nigdy wcześniej nie było opisanych. Substytucje obejmowały głównie C-koniec epitopu dla komórek T CD4+, fragment peptydowy wiążący cynk, epitop dla komórek T CD8+ oraz nakładający się na niego liniowy epitop E. Przewidziana struktura drugorzędowa dla fragmentu białka gp51 badanych izolatów BLV wykazała, iż wzorzec aminokwasowy generowany przez nowo wykryte substytucje koreluje ze zmianami w strukturze analizowanego fragmentu białka. Poniższe obserwacje wskazują na użyteczność znajomości sekwencji izolatów BLV zarówno w badaniach pokrewieństwa filogenetycznego, jak również w badaniach diagnostycznych pod kątem wykrywania wariantów wirusa BLV wykazujących zróżnicowanie genetyczne i pochodzących z różnych regionów geograficznych świata.



## PRZYPADEK ZAKAŻENIA WIRUSEM SCHMALELENBERG (SBV) U BYDŁA THE CASE OF SCHMALLEMBERG INFECTION (SBV) IN CATTLE

Krzysztof Rypuła<sup>1</sup>, Roman Balcerek<sup>2</sup>, Karolina Bierowiec<sup>1</sup>, Aleksander Hamala<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Chorób Zakaźnych i Administracji Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: krzysztof.rypula@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Prywatna Praktyka Weterynaryjna, Grashofweg 59, Telingstedt

<sup>3</sup>Gabinet Weterynaryjny, Wądroże Wielkie 176

Począwszy od września 2011 r. na terenie Holandii oraz Niemiec obserwowano wśród bydła mlecznego objawy choroby przebiegające z gorączką, spadkiem mleczności, pogorszeniem kondycji oraz biegunką. Początkowo brano pod uwagę typowe zakażenia bydła występujące endemicznie lub okresowo pojawiające się zakażenia wirusowe. W celu rozpoznania pobierano krew od zakażonych zwierząt. W dniu 18 listopada 2011 r. Instytut Friedricha-Löfflera w Niemczech poinformował o wykryciu nowego wirusa – Schmallenberg wirus (SBV), należącego do rodzaju *Orthobunyviridae*, w rodzinie *Bunyviridae*, dla którego wektorem są owady z rodzaju kuczmanów (*Culicoides spp.*). Obecność wirusa Schmallenberg potwierdzono jak dotąd u bydła, owiec i kóz w Niemczech, Holandii, Belgii, Francji i Anglii [Hoffman i wsp., 2012; Anonim, 2012].

Przypadek zakażenia wirusem Schmallenberg miał miejsce na przełomie lutego i marca br. w gospodarstwie rodzinnym liczącym 80 krów i 40 jałówek HF. Od ponad 40 lat w gospodarstwie tym stosowana była sztuczna inseminacja, a porody nie wymagały nigdy interwencji lekarskiej. Przeżywalność cieląt wynosiła 100%. Gospodarstwo jest wolne od gruźlicy bydła, brucelozy bydła, enzootycznej białaczki bydła oraz IBR/IPV.

W gospodarstwie nie obserwowano objawów, które mogłyby wskazywać na zakażenie wirusem Schmallenberg, tj.: podwyższenie w.c.c. do 40°C, przejściowa biegunka czy spadek mleczności. Po wystąpieniu incydentu związanego z izolacją u płodu SBV również nie obserwowano objawów chorobowych. Zmiany, które pojawiły się nagle, dotyczyły jedynie poronionego płodu. Obserwowano wygięcie kończyn (artrogrypozę), torticollis, zeszywnienie stawów, deformację głowy (wodogłowie) i znacznego stopnia uszkodzenie rdzenia kręgowego. Rozpoznanie zostało przeprowadzone na podstawie zmian u poronionego płodu i potwierdzone w badaniu laboratoryjnym przy użyciu wysoko czułej i swoistej techniki RT-qPCR, która pozwala na szybką identyfikację tego zakażenia. Opisany przypadek był 11 przypadkiem potwierdzonym w Szlezwik-Holsztyn, a drugim w powiecie Ditmarch na terenie Niemiec.

Leczenie jak dotąd nie jest znane. Ponieważ jest to nowa choroba, konieczne są dalsze prace w celu ustalenia, jakie środki kontroli mogą być odpowiednie, aby ograniczyć rozprzestrzenianie się SBV. Aczkolwiek zakażenie SBV nie jest chorobą podlegającą obowiązkowi zgłaszania, hodowcy proszeni są o kontakt z lekarzem weterynarii, jeżeli spotkają się z przypadkami martwo urodzonych cieląt lub poronionych płodów, kiedy widoczne są deformacje lub objawy nerwowe.

Do tej pory nie odnotowano przypadków choroby u ludzi na terenach dotkniętych zakażeniem SBV, szczególnie wśród osób narażonych, takich jak hodowcy czy lekarze weterynarii. Jest mało prawdopodobne, aby istniało ryzyko zakażenia ludzi tym wirusem, ale nie zostało to w pełni potwierdzone.



WYSTĘPOWANIE ZAKAŻEŃ *LEPTOSPIRA HAJDRO* U BYDŁA W POLSCEOCCURRENCE OF *LEPSOSPIRA HAJDRO* INFECTIONS IN CATTLE IN POLAND

Krzysztof Rypuła, Katarzyna Płoneczka-Janeczko, Karolina Bierowiec, Aleksander Hamala

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: krzysztof.rypula@up.wroc.pl

Zakażenia powodowane przez drobnostroje z rodzaju *Leptospira* zależą od serowaru mogą w różnorodny sposób oddziaływać na stan kliniczny zwierząt. W odniesieniu do serowaru *hajdro* zakażenie zwykle ma charakter zakażenia endemicznego i u zwierząt dorosłych jest przyczyną ronienia oraz okresowego nagłego spadku wydajności mlecznej. U cieląt zwykle do pierwszego miesiąca życia pojawia się anemia hemolityczna, silna wybroczynowość i upadki.

**Materiał i metody:** W latach 2011–2012 w Katedrze Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu oraz laboratorium Weterynaryjna Diagnostyka Laboratoryjna w Gietrzwałdzie przeprowadzono badania mające na celu określenie stopnia rozprzestrzenienia zakażeń powodowanych przez *Leptospira interrogans* serowar *hajdro* wśród bydła ras mlecznych na terenie Polski.

Do badań wykorzystywano próby zbiorcze mleka pobierane podczas udoju kontrolnego do pojemników polipropylenowych o pojemności 150 ml. Pobrane próby schładzano i przekazywano do laboratorium diagnostycznego. Z regionów północnej Polski próby przesyłano do laboratorium w Gietrzwałdzie, a regionu Polski południowej do laboratorium Katedry Epizootiologii. Pozyskane próby następnie mrożono w temp.  $-20^{\circ}\text{C}$  do czasu wykonania badań.

Badanie w kierunku obecności swoistych przeciwciał przeciwko *Leptospira hajdro* wykonywano przy użyciu testu DAS-ELISA (Linnodee Animal Care, Anglia) wśród kotów pochodzących z Wrocławia i okolic. Łącznie przebadano 457 zwierząt. W 393 przypadkach materiałem do badań była surowica, w której miano przeciwciał określano za pomocą testu immunofluorescencji pośredniej Screen Fluo FCoV (Mega Cor, Austria). W przypadku podejrzenia wysiękowej formy FIP – 64 przypadki – materiał stanowił płyn wysiękowy pobierany z jamy brzusznej lub opłucnowej. Zakażenia FCoV stwierdzano, stosując test immunofluorescencji bezpośredniej (DIF) z anty-FCoV serum FITC-FIP (VMRD, USA). Wynik badania obserwowano w mikroskopie fluorescencyjnym Nikon Eclipse E400 (Japan).

**Wyniki i omówienie:** Z przeprowadzonych badań wynika, iż dodatni wynik uzyskano u 39,6% przebadanych osobników. Z czego 43% pozytywnych wyników otrzymano przy zastosowaniu IIF, biorąc pod uwagę miano przeciwciał  $\geq 1:100$ . Wynik dodatni przy wykorzystaniu metody DIF stwierdzono u 18,7%. Analiza zwierząt pod względem płci, wieku, rasy i sposobu utrzymania wykazała, że częściej wynik pozytywny uzyskiwano u samic, osobników rasowych oraz utrzymywanych grupowo. Natomiast nie zauważono znaczących różnic, jeżeli chodzi o wiek zwierząt. Ze względu na znaczne rozpowszechnienie biotypu jelitowego w populacji kotów i niemożność rozróżnienia biotypów za pomocą metod serologicznych powyższe badania są tylko orientacyjną informacją o rozpowszechnieniu koronawirusów. Odnosząc się do podobnych badań przeprowadzonych w latach 2000–2004 na tym samym terenie zauważalny jest znaczący wzrost ilości kotów – ponad trzykrotny, które wykazują wysokie miano przeciwciał przeciw FCoV w badaniu IIF lub wynik dodatni płynu wysiękowego metodą DIF [Rypuła i Płoneczka, 2005].





## ZASTOSOWANIE SYSTEMU DIVA W ERADYKACJI ZAKAŻEŃ BOHV-1 W STADACH BYDŁA

### DIVA SYSTEM IN ERADICATION OF IBR/IPV IN A CATTLE DAIRY HERD

Krzysztof Rypuła, Katarzyna Płoneczka-Janeczko, Jerzy Kita, Andrzej Zieliński

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: krzysztof.rypula@up.wroc.pl*

**Cel obserwacji:** Eradykacja zakażenia wirusem IBR/IPV w stadzie bydła przy zastosowaniu strategii DIVA (szczepienie-eliminacja).

**Materiał i metody:** Obserwację prowadzono w okresie od wiosny 2004 do lata 2011 r. w stadzie bydła mlecznego, w którym w 2003 r. rozpoznano zakażenie BHV-1. W 2004 r. poddano szczepieniu dwukrotnemu wszystkie zwierzęta w stadzie powyżej 5 mies. życia. Pierwsze szczepienie wykonano przy użyciu preparatu Rispoval IBR vivum; a drugie 4 tygodnie później z zastosowaniem preparatu Rispoval IBR inactivatum (Pfizer, Belgia). Kolejne szczepienia wykonywano w cyklu co 6 miesięcy przy użyciu preparatu Rispoval IBR inactivatum. Natomiast zwierzęta które osiągnęły wiek 5 miesięcy, poddawano dwukrotnemu szczepieniu wg. opisanego powyżej schematu.

Materiał do badań kontrolnych stanowiła surowica krwi pobrana od zwierząt w wieku 8–9 miesięcy z żyły jarzmowej i badana w kierunku obecności przeciwciał BHV-1 przy użyciu testu HerdCheck BHV-1 gE<sup>-</sup> (IDEXX, Sweden).

**Wyniki i omówienie:** Regularne badania serologiczne wykonywano u zwierząt szczepionych począwszy od 2005 r. W tym też roku poddano badaniu 221 próbek surowicy krwi, uzyskując jeden wynik dodatni. Badane 196 próbki w 2006 r. były ujemne. W następnym roku spośród 225 badanych próbek uzyskano 2 wyniki dodatnie. Natomiast w kolejnych latach: 2008, 2009, 2010 i do połowy 2011 r. pobrano do badania odpowiednio 133, 130, 162 i 70 próbek. Wszystkie one w badaniu serologicznym były ujemne. W drugiej połowie 2011 r. przeprowadzono badanie wszystkich zwierząt dorosłych. Łącznie badaniu poddano 422 zwierzęta, uzyskując dwanaście wyników dodatnich, z których 3 zwierzęta były w wieku 3 lat, po jednym osobniku w wieku 4 i 5 lat, cztery w wieku 7 lat, a następnie 5, 3 i 2 odpowiednio w wieku 8, 9 i 10 lat. Seroprevalencja w stadzie wyniosła 4.97%.

W okresie prowadzonego program eradykacji BHV-1 odnotowano także wzrost ilości oddawanego mleka z 8259 kg mleka w 2004 r. do 10 180 kg w roku 2011. Równocześnie odnotowano wzrost liczby nowo urodzonych cieląt z 308 w 2004 do 374 w roku 2011. Nie obserwowano w omawianym okresie objawów klinicznych IBR/IPV wśród wszystkich grup wiekowych w stadzie.



## TRANSKRYPTOMICZNE PODSTAWY MARMURKOWATOŚCI MIĘŚNI SZKIELETOWYCH BUHAJÓW

### TRANSCRIPTIONAL BACKGROUND OF BEEF MARBLING IN BULLS

Tomasz Sadkowski<sup>1</sup>, Anna Ciecierska<sup>1</sup>, Jolanta Oprządek<sup>2</sup>, Tomasz Motyl<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Fizjologicznych

<sup>2</sup>Polska Akademia Nauk, Jastrzębiec, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt

Mięso marmurkowane (ang. *marbled beef*) charakteryzuje się występowaniem nierównomiernego rozłożenia tłuszczu śródmięśniowego (ang. *intramuscular fat* – IMF) w tkance mięśni szkieletowych, nadającego mu wygląd podobny do marmuru. Akumulacja tłuszczu w mięśniach szkieletowych, pojawia się około 11. miesiąca życia i kształtuje się do 18.–24. miesiąca życia. Optymalna zawartość tłuszczu śródmięśniowego nadaje mięsu pożądany przez konsumentów smak, soczystość i kruchość, a zbyt mała jego ilość powoduje, że mięso jest suche i mniej smaczne.

**Cel badań:** Wytypowanie genów charakterystycznych dla tkanki mięśniowej o wysokiej zawartości tłuszczu śródmięśniowego.

**Materiał i metody:** Przeznaczone do badań skrawki mięśnia półścięgienistego pochodziły od 15 miesięcznych buhajów rasy charakteryzującej się niską zawartością IMF (limousine – LIM) oraz ras o wyraźnie wyrażonej marmurkowatości (holsztyńsko-fryzyskiej – HF i hereford – HER). Analizę przeprowadzono z wykorzystaniem techniki mikromacierzy DNA. W tym celu z pobranych próbek wyizolowano całkowite RNA. Próby o pożądanej ilości całkowitego RNA zostały poddane trawieniu DNAzą, a następnie oczyszczaniu celem eliminacji zanieczyszczeń i pozbycia się genomowego DNA. Walidacja wyników uzyskanych metodą mikromacierzy DNA została przeprowadzona za pomocą metody real-time qPCR. Uzyskane wyniki zostały poddane analizie statystycznej przy użyciu programu GraphPad Prism5. Szczegółowa analiza danych pochodzących z mikromacierzy DNA przeprowadzona była z wykorzystaniem oprogramowania GeneSpring, Panther, DAVID oraz Pathway Studio.

**Wyniki i omówienie:** Analiza różnic w ekspresji genów pomiędzy transkryptomami mięśni o niskiej zawartości IMF (LIM) a mięśniami o wysokiej zawartości IMF (HF i HER) pozwoliła na identyfikację statystycznie istotnych ( $P < 0,05$ ) różnic w ekspresji 519 genów regulowanych tak samo u obu ras z marmurkowatością (HF i HER) w stosunku do rasy o mięsie chudym (LIM). Wśród nich 243 genów cechowało się wyższą, a 276 genów niższą ekspresją u HF i HER w porównaniu z LIM. Wśród zidentyfikowanych genów 93 charakteryzowały się co najmniej 2-krotną zmianą ekspresji. Analiza ekspresji wybranych genów, tj.: *rgs2*, *atf3*, *nr4a2*, *dkk1*, *diras3* i *pou5f1*, za pomocą techniki real-time qPCR potwierdziła w sposób istotny statystycznie takie same tendencje w ekspresji tych genów jak uzyskane podczas analizy techniką mikromacierzy DNA. Analiza ontologiczna 519 zidentyfikowanych transkryptów wykonana za pomocą oprogramowania Panther, DAVID oraz Pathway Studio ujawniła następujące procesy biologiczne i szlaki molekularne, w które zaangażowane są zidentyfikowane, wpływające na wystąpienie marmurkowatości geny: apoptoza (41 genów), metabolizm lipidów (36), ścieżka Notch (30), metabolizm węglowodanów (24), metabolizm białek (22), działanie insuliny (19), ścieżka Hedgehog (14), różnicowanie komórek (14), proliferacja komórek (14), system sygnałowy adipocytów (12), melanogeneza (12), metabolizm kwasów tłuszczowych (9), procesy kataboliczne zależne od GTP (7) oraz szlak sygnałowy Wnt (7).

Z analizy danych literaturowych wynika, że wiele ze zidentyfikowanych genów nie jest obecnie opisanych jako wywierające wpływ na wystąpienie lub stopień nasilenia marmurkowatości mięsa wołowego. Konieczne są dalsze szczegółowe badania mające na celu ustalenie, czy zidentyfikowane geny mogą być markerami biologicznymi charakterystycznymi dla dobrze wyrażonej marmurkowatości mięśni szkieletowych bydła.



## PROFIL TRANSKRYPTOMICZNY KOMÓREK SATELITOWYCH MIĘŚNI SZKIELETOWYCH BYDŁA O UŻYTKOWOŚCI MIĘSNEJ

### TRANSCRIPTIONAL PORTRAIT OF BEEF PERFORMANCE-RELATED SATELLITE CELLS

Tomasz Sadkowski<sup>1</sup>, Anna Ciecierska<sup>1</sup>, Jolanta Oprządek<sup>2</sup>, Zofia Wicik<sup>1</sup>, Tomasz Motyl<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Fizjologicznych

<sup>2</sup>Polska Akademia Nauk, Jastrzębiec, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt

Unipotentne komórki satelitowe występujące w mięśniach dorosłych zwierząt są to małe jednojądrzaste komórki mięśniowe o cechach embrionalnych. Są one zlokalizowane na powierzchni wielojądrzastych włókien mięśniowych i pokryte błoną podstawną. Komórki te pozostają w stanie uśpionia i stanowią niezróżnicowaną pulę komórek pierwotnych umożliwiających naprawę i regenerację uszkodzonych mięśni szkieletowych oraz przyrost masy mięśniowej w okresie pourodzeniowym.

Analiza ekspresji niezróżnicowanych komórek satelitowych o cechach mioblastów miała na celu zbadanie, czy zróżnicowanie w budowie tkanki mięśniowej u dorosłych buhajków ras mięsnych w stosunku do rasy mlecznej zdeterminowane jest już na poziomie mioblastów, czy następuje dopiero podczas dojrzewania tkanki mięśniowej.

**Materiał i metody:** Materiałem do badań były wyizolowane komórki satelitowe z mięśnia półścięgnistego, pobranego od 15-miesięcznych buhajów rasy typowo mlecznej (holsztyńsko-fryzyskiejHF) oraz ras jednostronnie mięsnych (limousineLIM i herefordHER). Analizę przeprowadzono przy użyciu techniki mikromacierzy DNA. Najpierw wyizolowano całkowite RNA, następnie próby zostały trawione DNAzą i oczyszczone w celu pozbycia się genomowego DNA. Uzyskane wyniki zostały zwalidowane na poziomie transkryptu za pomocą metody Real-time PCR. Analiza uzyskanych wyników była prowadzona przy użyciu oprogramowania Gene Spring, Panther, DAVID, Pathway Studio oraz GraphPad.

**Wyniki i omówienie:** Powyższa analiza, porównanie HF vs. LIM/HER, wykazała istotne statystycznie ( $P < 0,05$ ) różnice w ekspresji 784 genów, których ekspresja zmieniła się co najmniej 2-krotnie. Wśród zidentyfikowanych genów 486 charakteryzowało się większą, a 298 mniejszą ekspresją u ras mięsnych w stosunku do mlecznej. Za pomocą dostępnej literatury i bazy danych Panther sklasyfikowano geny pod względem zaangażowania w procesy biologiczne. Jedną z dominujących grup były procesy rozwojowe (73). Głębsza analiza pozwoliła na wytypowanie 38 genów biorących udział w rozwoju mezodermalnym oraz 15 genów odpowiedzialnych za rozwój tkanki mięśniowej (*myom3*, *myf5*, *tpm1*, *srl*, *ttni3*, *evc2*, *myh3*, *csr2*, *myh11*, *myog*, *tnc2*, *lmod2*, *myl9*, *myh2*, *tnc1*). Za istotną do rozwoju mięśni szkieletowych uznano również grupę genów zaangażowanych w procesy metaboliczne białek, w której 34 geny były odpowiedzialne za proteolizę, a 31 za procesy modyfikacji białek.

Wiadomym jest, iż wzrost i rozwój tkanki mięśniowej są procesem skomplikowanym i nie do końca poznanym. Jak wynika z danych literaturowych, aktywacja swoistych genów warunkujących właściwości i funkcje powstających włókien mięśniowych, a w szczególności ich kurczliwość, jest następstwem działania czynników transkrypcyjnych należących do rodziny MyoD, których różnice w ekspresji zanotowano również w przypadku porównania transkryptomów komórek satelitowych buhajów o użytkowości mięsnej w stosunku do mlecznej.

Powyższe badania pozwoliły na ustalenie nowych genów kandydujących, których ekspresja już na poziomie niezróżnicowanych komórek satelitowych może zwiastować większe przyrosty masy mięśniowej buhajów ras mięsnych. Przeprowadzona analiza pozwoliła ustalić różnice w profilach transkryptomicznych komórek satelitowych mięśni szkieletowych ras bydła o odmiennych kierunkach produkcji. Niezbędne są dalsze badania w celu ustalenia funkcji zidentyfikowanych genów i ich wpływu na proliferację i różnicowanie komórek satelitowych oraz rozwój tkanki mięśniowej.



## EKSPRESJA RECEPTORÓW LEUKOTRIENÓW W EKSPERYMENTALNIE INDUKOWANYCH STANACH ZAPALNYCH MACICY KROWY

### EXPRESSION OF LEUKOTRIENE RECEPTORS IN EXPERIMENTALLY INDUCED INFLAMMATIONS OF UTERUS IN COWS

Barbara Socha<sup>1</sup>, Mamadou Bah<sup>1</sup>, Karol Korzekwa<sup>2</sup>, Dariusz Jan Skarżyński<sup>1</sup>, Anna Korzekwa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Polska Akademia Nauk, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, Zakład Immunologii i Patologii Rozrodu, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn, e-mail: a.korzekwa@pan.olsztyn.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, Wydział Ochrony Środowiska i Rybactwa

Leukotrieny (LTs) są metabolitami kwasu arachidonowego zaangażowanymi w regulację funkcji rozrodczych. Wykazaliśmy, że LTs modyfikują wydzielanie progesteronu w ciałku żółtym, estradiolu w pęcherzykach jajnikowych oraz prostaglandyn w macicy krowy. Poza rolę w prawidłowym funkcjonowaniu układu rozrodczego krowy LTs wpływają na zwiększenie wydzielania prostaglandyn podczas indukowanych *Escherichia coli* (*E. coli*) procesów zapalnych w macicy, a dodatkowo proces wydzielania hormonów był potęgowany inkubacją skrawków macicy z cytokinami (czynnik martwicy nowotworu alfa – TNF + interleukina 1 beta – IL-1).

Celem badań było określenie czy pod wpływem procesu zapalnego dochodzi do zmian w ekspresji mRNA receptorów LTs w macicy.

Materiał badawczy stanowiły skrawki macicy krowy (N=4, 8.–12. dzień cyklu jajnikowego) pobrane po ubojowo z rogu macicy przyległego do aktywnego jajnika od krów zdrowych. Skrawki macicy (30 mg) stymulowano cytokinami TNF+IL-1(10 ng/ml) oraz/lub *E. coli* (10<sup>6</sup>CFU/ml). *E. coli* izolowano od krów z *metritis* i przynależność gatunkową potwierdzano metodą hodowlaną (na płytkach Petriego z pożywką Chromo-Cult ES) oraz PCR (16S rDNA – PCR) względem dwóch szczepów referencyjnych ATCC. W tkance macicy po 24 godz. inkubacji w medium hodowlanym (1 ml) określano ekspresję mRNA dla receptorów LTB<sub>4</sub> i C<sub>4</sub> metodą Real Time RT PCR.

Wykazano, że pod wpływem *E. coli*, w skrawkach macicy nastąpił wzrost ekspresji zarówno dla receptora LTB<sub>4</sub>, jak i LT cysteinylowych – LT cys (P<0,05). Cytokiny dodatkowo potęgowały w procesie zapalnym indukowanym *E. coli* wzrost ekspresji dla receptora LT cys (P<0,01), ale nie wpływały na zmiany ekspresji dla receptora LTB<sub>4</sub> (P>0,05). Pod wpływem inkubacji skrawków z cytokinami (bez *E. coli*) zaobserwowano tendencję do wzrostu ekspresji obu receptorów (P>0,05).

Uzyskane wyniki wskazują, że pod wpływem procesu zapalnego dochodzi do indukcji potencjału do wzmożonej syntezy leukotrienów w postaci wzrostu ekspresji receptorów na poziomie mRNA w macicy, a działanie cytokin potęguje ten proces.



## OCENA EFEKTYWNOŚCI LECZENIA GORĄCZKI Q OKSYTETRACYKLINĄ U PRZEŻUWACZY

### EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF Q FEVER TREATMENT WITH OXYTETRACYCLINE IN RUMINANTS

Monika Szymańska-Czerwińska, Krzysztof Niemczuk

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Chorób Bydła i Owiec/Laboratorium Diagnostyki Serologicznej, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy,  
e-mail: monika.szymanska@piwet.pulawy.pl

Informacje z ostatnich lat wskazują, że gorączka Q stanowi wciąż istotny problem zdrowotny ludzi i zwierząt. Jest ona epidemiczną chorobą zakaźną, która zaliczana jest do zoonoz. Do zakażeń u ludzi najczęściej dochodzi poprzez kontakt z zainfekowanymi zwierzętami. Wywoływana jest przez drobnoustroj z gatunku *Coxiella burnetii*. Leczenie infekcji gorączki Q z uwagi na fakt, że jest to drobnoustroj bytujący wewnątrzkomórkowo nie jest łatwe. W terapii najczęściej wykorzystywane są tetracykliny.

**Cel badań:** Ocena efektywności leczenia gorączki Q oksytetracykliną u przeżuwaczy (bydła oraz kóz) na podstawie oceny wyników badań uzyskanych przy zastosowaniu metody serologicznej (OWD).

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 46 próbek surowicy od kóz oraz 36 próbek od bydła ze stada zainfekowanego gorączką Q. Krew do badań laboratoryjnych została pobrana przed rozpoczęciem leczenia w stadzie oraz po zastosowaniu kolejnych dawek antybiotyku. Zwierzęta leczone były przy użyciu oksytetracykliny w dawce 30 mg/ kg masy ciała. Oksytetracyklina podawana była trzykrotnie w odstępach pięciodniowych i ten sam schemat leczenia powtórzono po miesiącu. Surowice zgromadzone do badań przebadane zostały przy zastosowaniu odczynu wiązania dopełniacza (OWD) w celu stwierdzenia obecności przeciwciał anti-*Coxiella burnetii* przed zastosowaniem leczenia oraz po jego przeprowadzeniu.

**Wyniki i omówienie:** Badania serologiczne wykazały, że po zastosowaniu pierwszej dawki oksytetracykliny w przypadku 40 badanych kóz nie było obecności przeciwciał anti-*Coxiella burnetii*. Ponadto u pięciu seropozytywnych sztuk kóz odnotowano spadek miana przeciwciał po zastosowaniu pierwszych trzech dawek antybiotyku. W przypadku dwóch kóz poziom przeciwciał utrzymywał się na niezmiennym poziomie. Wyniki badań serologicznych wykonanych po zastosowaniu drugiej dawki oksytetracykliny w dwóch surowicach kóz nie wykazały obecności przeciwciał, natomiast surowica od czterech pozostałych zwierząt w dalszym ciągu zawierała przeciwciała, ale ich poziom był znacznie niższy niż w poprzednim badaniu. W przypadku bydła pozytywny efekt leczenia zaobserwowano w odniesieniu do 21 zwierząt. Przeciwciała anti-*Coxiella burnetii* wykryto w 16 surowicach bydlęcych, ale w dziesięciu z nich poziom był znacznie niższy w porównaniu z badaniami wykonanymi przed rozpoczęciem leczenia. Uzyskane wyniki badań wskazują, że leczenie zakażeń *Coxiella burnetii* jest efektywniejsze w przypadku kóz niż bydła. Odsetek sztuk wyleczonych (nie wykazujących obecności przeciwciał) po zastosowaniu leczenia wynosił 89,13%, natomiast w przypadku bydła – na poziomie 27,77%. Uzyskane wyniki badań mogą wskazywać, że leczenie przy zastosowaniu oksytetracykliny może w niektórych przypadkach jedynie hamować rozwój infekcji, ale nie powoduje jej eliminacji.



## WRAŻLIWOŚĆ NA ANTYBIOTYKI GŁONÓW Z RODZAJU *PROTOTHECA* WYIZOLOWANYCH Z PRZYPADKÓW ZAPALENIA WYMIENIA KRÓW

### ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF *PROTOTHECA* SP. ISOLATED FROM BOVINE MASTITIS

Władysław Wawron, Mariola Bochniarz, Tomasz Piech

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, ul. Głęboka 30, e-mail: mariolabochniarz@interia.pl

Algi z rodzaju *Prototheca* to jednokomórkowe, pozbawione chlorofilu organizmy, których naturalnym miejscem bytowania jest środowisko charakteryzujące się wysoką wilgotnością i dużą zawartością materii organicznej (ściółka i odchody zwierząt). Jedną z najważniejszych form zakażenia tymi drobnoustrojami jest mastitis krów mlecznych.

**Cel badań:** Ocena wrażliwości na antybiotyki przeciwgrzybicze i przeciwbakteryjne alg z rodzaju *Prototheca* wyizolowanych z mastitis krów mlecznych.

**Materiał i metody:** Badania zostały przeprowadzone na 27 szczepach *Prototheca* zoppii wyizolowanych z mleka 34 krów chorych na zapalenie wymienia, utrzymywanych w oborze wolnostanowiskowej na terenie woj. podlaskiego. Badanie bakteriologiczne i mykologiczne wykonano zgodnie z obowiązującymi procedurami. Identyfikację gatunkową szczepów *Prototheca* sp. przeprowadzono przy użyciu testu API 20C AUX (BioMerieux). Ponadto, dla wyizolowanych szczepów określono wrażliwość na wybrane antybiotyki przeciwgrzybicze (amfoterycynę B, ekonazol, flukonazol, 5-fluorocytozynę, ketokonazol, klotrimazol, mikonazol, nystatynę) oraz antybiotyki przeciwbakteryjne (amoksycylinę z kwasem klawulanowym, cefaleksynę, cefoperazon, enrofloksacynę, gentamycynę, kanamycynę, kolistynę, linkomycynę, oxytetracyklinę i polimyksynę B). Badanie przeprowadzono metodą krążkowo-dyfuzyjną zgodnie ze wskazaniami NCCLS.

**Wyniki i omówienie:** Analiza wrażliwości szczepów *P. zoppii* wykazała wysoką nieskuteczność antybiotyków zarówno przeciwgrzybiczych, jak i przeciwbakteryjnych. Wszystkie wyizolowane z mleka algi były niewrażliwe na klotrimazol, fluconazol, ekonazol, 5-fluorocytozynę (100,0% opornych szczepów) oraz mikonazol (92,6% opornych szczepów). Największą aktywność wśród antybiotyków przeciwgrzybiczych wykazały nystatyna, ketoconazol oraz amphoterycyna B (88,9, 74,1, 48,1%, wrażliwych i średniowrażliwych szczepów). Niestety, dostępne preparaty przeciwgrzybicze hamujące *in vitro* wzrost alg wyizolowanych z mleka nie są przystosowane do podawania dowymieniowego ze względu na bardzo silne działanie drażniące w obrębie tkanki gruczołowej. Ogranicza to znacznie zakres możliwości skutecznego zwalczania *mastitis protothecosa*, tym bardziej że analiza wrażliwości *P. zoppii* na antybiotyki przeciwbakteryjne również wskazuje na znaczną ich oporność. Wysoką aktywność wobec *P. zoppii* stwierdzono jedynie w przypadku gentamycyny oraz kanamycyny (odpowiednio 96,3 oraz 92,6% wrażliwych szczepów). Nieco słabsze działanie stwierdzono w przypadku polimyksyny B (59,3% szczepów wrażliwych i 33,3% średniowrażliwych). Natomiast pozostałe preparaty przeciwbakteryjne były nieskuteczne: cefoperazone, cefaleksyna, enrofloksacyna, linkomycyna i oxytetracyklina (100,0% opornych szczepów).



## KWAS LIZOFOSFATYDOWY (LPA) JAKO NOWY, LOKALNY AUTO/PARAKRYNNY REGULATOR PROCESÓW ROZRODCZYCH U KROWY

## LYSOPHOSPHATIDIC ACID AS A NOVEL, LOCAL AUTO/PARACRINE REGULATOR OF THE REPRODUCTIVE PROCESSES IN THE BOVINE REPRODUCTIVE TRACT

Izabela Woźniak-Potocka, Dorota Boruszewska, Ilona Kowalczyk-Zięba,  
Dariusz Jan Skarżyński

Zakład Immunologii i Patologii Rozrodu, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii  
Nauk, Olsztyn, e-mail: i.wozniak-potocka@pan.olsztyn.pl

Kwas lizofosfatydowy (LPA) jest fosfolipidem wchodzącym w skład błon komórkowych, który może jednocześnie pełnić funkcję zewnątrzkomórkowego przekaźnika. Specyficzne receptory związane z białkami G są odpowiedzialne za wewnątrzkomórkowe działanie LPA. Do tej pory przeprowadzono i opisano wiele badań dotyczących udziału LPA w regulacji procesów rozrodczych u różnych gatunków zwierząt, w tym również u przeżuwaczy. Badania u krowy dotyczą regulacji funkcjonowania macicy i jajnika zarówno w przebiegu cyklu rujowego, jak i wczesnej ciąży. Dodatkowo badano również bezpośredni wpływ LPA na proces hodowli zarodków bydłych *in vitro*. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że LPA w układzie rodny krowy moduluje syntezę i wydzielanie prostaglandyn (PG). Udowodniono ponadto, że głównym miejscem syntezy LPA w układzie rodny krowy zarówno podczas przebiegu cyklu jajnikowego, a w szczególności wczesnej ciąży, jest błona śluzowa macicy. Jakkolwiek, w czasie powstawania wczesnej ciąży u krowy ciało żółte (CL) i zarodek są również miejscem syntezy, ale przede wszystkim celem działania LPA pochodzącego z macicy. Dodatkowo, wykazaliśmy, że endogenne LPA wpływał korzystnie na ilość skutecznych zacień i stymulował syntezę oraz wydzielanie hormonów luteotropowych ( $PGE_2$  w błonie śluzowej macicy i progesteronu -P4 w CL), chroniących aktywne w tym okresie CL, które w przypadku powstania ciąży odpowiada za jej utrzymanie. Zbadano również enzymatyczny i receptorowy mechanizm działania LPA w błonie śluzowej macicy krowy oraz w CL *in vitro*. Wykazaliśmy modulujący wpływ LPA na indukowaną cytokinami oraz tlenkiem azotu (NO) funkcjonalną i strukturalną luteolinę komórek steroidogennych CL krowy *in vitro*. Dodatkowo, w ostatnich, niepublikowanych badaniach wykazaliśmy obecność receptorów dla LPA, a także enzymów odpowiedzialnych za syntezę kwasu w oocytach i zarodkach bydłych hodowanych *in vitro* na różnych etapach ich rozwoju oraz wpływ LPA na proces hodowli zarodków bydłych *in vitro*. Podsumowując, uzyskane wyniki badań wskazują na LPA jako nowy, lokalny, auto/parakrynnny regulator procesów rozrodczych u krowy.



## CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW JAKOŚCI NASIENIA BUHAJÓW W ZALEŻNOŚCI OD UPŁYWU CZASU OD JEGO ROZMROŻENIA

### CHARACTERISTICS OF SELECTED INDICATORS OF BULL SEMEN QUALITY WITH DEPENDING ON TIME ELAPSED FROM DEFROSTING

Zygmunt Wrona, Michał Klimont, Piotr Brodzki, Leszek Krakowski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt,  
ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: zygmunt.wrona@up.lublin.pl

Komputerowo wspomagane systemy oceny nasienia samców umożliwiają bardziej dokładną i obiektywną ocenę przydatności ich nasienia, z uwzględnieniem opóźnionego w stosunku do standardu, czasu jego deponowania do dróg rodnych samic, jak zdarza się przy inseminowaniu krów w trudnych warunkach terenowych (bez możliwości dojazdu do gospodarstwa).

**Cel badań:** Charakterystyka wskaźników ruchliwości nasienia buhajów przeprowadzona z wykorzystaniem SCA, standardowo rozmrożonego i następnie przetrzymywanego w temperaturze pokojowej przez okres dłuższy niż wskazane jest w procedurze jego użytkowania.

**Materiał i metody:** Do badań wykorzystano nasienie mrożone od 6 buhajów. Słomki z nasieniem od tego samego buhaja i z tej samej serii mrożenia wyjmowano z kontenera i rozmrażano w łaźni wodnej w 37°C przez 30 sek. Tak rozmrożone nasienie pozostawało następnie w temperaturze pokojowej i było poddawane analizie z wykorzystaniem systemu SCA bezpośrednio po rozmrożeniu, a następnie po upływie 15, 30, 45 i 60 minut. W ocenie ruchu plemników uwzględniano szybkość ruchu (ruch szybki, średni, wolny i plemniki statyczne) oraz rodzaj ruchu (plemniki o ruchu progresywnym, nieprogresywnym i niewykazujące ruchu).

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone badania wykazały, iż liczba plemników o ruchu szybkim zmniejszyła się do wartości 33,2%, tj. o 6,8%, po 15 min od rozmrożenia i o 3,7% w 30 minucie badania, aby następnie zwiększyć się do wartości 34,8% po upływie 45 min. W 60 min nastąpił ponowny spadek odsetka plemników o ruchu szybkim do wartości 29,4%. Analiza ruchu plemników o średniej szybkości wykazała stopniowy spadek odsetka plemników do 45 min obserwacji, a następnie nieznaczny jego wzrost do wartości 26,9% w 60 min badania. Odsetek plemników statycznych (ruch  $\leq 10 \mu\text{m}/\text{sek}$ . lub niewykazujących ruchu) bezpośrednio po rozmrożeniu przyjął wartość średnio 9,4% bezpośrednio po rozmrożeniu, a następnie stopniowo narastał w 15 i 30 min obserwacji do wartości odpowiednio 15,6 i 19,5%, by ponownie obniżyć się aż do wartości ok. 17% w 45 i 60 min badania. Odsetek plemników poruszających się ruchem progresywnym po rozmrożeniu wynosił 28%, następnie po upływie 15 min od rozmrożenia wartość ta zmalała o 2,7% i o 0,6 po upływie 30 min doświadczenia. W 45 min od rozmrożenia zaobserwowano nieznaczny wzrost odsetka plemników poruszających się ruchem progresywnym i wyniósł on 26,8%, a w 60 min. ponowny spadek o 3,4%. Ruch nieprogresywny zaraz po pobraniu wykazywało 62,6% plemników, po upływie 15 min od rozmrożenia liczba ta zmniejszyła się o 3,6%, a w badaniu po 30 min o dalsze 3,3%. W 45 min doświadczenia odsetek plemników o ruchu nieprogresywnym wzrósł o 0,3%, a w 60 min o 3,3%.



## TWORZENIE PLATFORMY ON LINE ZARZĄDZANIA ROZRODEM, ZDROWOTNOŚCIĄ I PRODUKCYJNOŚCIĄ KRÓW MLECZNYCH

### PLATFORM CREATING FOR REPRODUCTION, HEALTH AND PRODUCTIVITY MANAGING ONLINE SYSTEM

Wojciech Zalewski, Jan Twardoń, Tadeusz Nowicki, Bogdan Dębski, Andrzej Wójcik,  
Konrad Zalewski, Marlena Boroń, Grzegorz Dejneka, Jacek Mrowiec

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: jan.twardon@up.wroc.pl

**Wstęp:** W ostatnich latach na rynku pojawiło się wiele komputerowych aplikacji bazodanowych służących wspomaganie zarządzania stadami bydła. Łączy je fakt rejestracji zdarzeń i informacji, pozostawiając użytkownikowi ich interpretację. Interpretacja ta zaś jest zależna od wielu okoliczności, które są zmienne i charakterystyczne dla występujących w stadzie warunków. Badanie ich wpływu i częstotliwości występowania z wykorzystaniem metod matematycznych może przynieść korzyści nie tylko gospodarzom, ale i naukowcom przez skupianie się na rozwiązaniach istotnych przede wszystkim w praktyce. Bieżąca analiza uzyskiwanych parametrów kontrolowanego rozrodu i zdrowia są tymi, które wskazują na to, jakie działania podejmować w celu optymalizacji produktywności stada. Służą temu m.in. narzędzia cyfrowe w formie aplikacji internetowej obsługującej system zarządzania rozrodem i zdrowotnością stada. Dzięki tym narzędziom aplikacja staje się platformą współdziałania praktyki weterynaryjnej i farmerskiej. Dodatkową inspiracją dla przyjętego rozwiązania stały się powszechny dostęp do Internetu „komputer pod strzechą”, obecne tendencje rynkowe oraz zmiany zachodzące w chowie i hodowli bydła w Polsce.

**Cel pracy:** Stworzenie narzędzia rejestracji zdarzeń i informacji on line „rozdród, zdrowotność i produktywność” (RZP) dotyczących stada i poszczególnych jego osobników fermy mlecznej, tworzenie modeli matematycznych i symulacji pod nazwą „cyber krowa”.

**Materiał i metody:** Utrzymywano w określonym, co najmniej rocznym przedziale czasowym, stały kontakt z pięćdziesięcioma fermami krów mlecznych zarejestrowanymi w bazie. Było w nich 9310 krów, wśród których zarejestrowano 62 665 różnorodnych zdarzeń. Dziennie system przetwarzał od 800 do 1 600 000 operacji bazodanowych, co wymagało  $2,4 \cdot 10^8$  operacji obliczeniowych w ciągu roku. Rejestrowano dane w zakresie RZP. Przekazywano SMSem do lekarza wet. i do zarządzającej stadem osoby konieczność podjęcia określonych działań w odniesieniu do poszczególnych osobników w stadzie, które następnie zostały zarejestrowane. Oceniano bieżące wskaźniki skuteczności rozrodu i podejmowane czynności przez opiekujących się stadami lekarzy weterynarii, uznane przez nich za konieczne. Zestawiono wyniki z 12 obór o łącznej liczbie krów 2200. Ograniczono się do przedstawienia indeksu inseminacyjnego dla maksymalnie czterech powtórek rui po unasiennieniu:

#### Wyniki:

**Liczba zabiegów insem od 1 do 4 (LZI) i odpowiadające im zakresy Indeksu Inseminacji (IAI):**

1)  $>1,37 - 2,8 <$ ; 2)  $>2,36 - 5,5 <$ ; 3)  $>4,25 - 7,00 <$ ; 4)  $>6,50 - 8,20 <$ .

**Dyskusja:** Wyniki rozrodu i związana z nimi obsługa w stadzie krów mlecznych jest przyczyną niewykorzystanych możliwości produkcyjnych krów na dużą skalę. Przeciętna obora o liczebności do 200 krów mlecznych, z tytułu wydłużonych okresów międzywycieleniowych, o przeciętnych wskaźnikach rozrodu, osiągnęła przychód pomniejszony nawet o 100 tys zł rocznie (wg własnych badań w toku). Ten problem jest m.in. skutkiem powtórek rui po inseminacji wyrażonym IAI. Wynika on z bardzo licznych uwarunkowań i zmiennych. Charakter zmienności wydaje się mieć zależności nieliniową, dlatego postanowiono posłużyć się statystyką sztucznych sieci neuronowych, która w wielu dyscyplinach jest powszechnie wykorzystywana, m.in. w biologii, medycynie i znacznie szerzej (link do str www):

([http://www.statsoft.pl/textbook/stathome\\_stat.html?http%3A%2F%2Fwww.statsoft.pl%2Ftextbook%2Fst-neunet.html](http://www.statsoft.pl/textbook/stathome_stat.html?http%3A%2F%2Fwww.statsoft.pl%2Ftextbook%2Fst-neunet.html)).

Niniejsza praca fragmentarycznie przedstawiła problem, odnosząc się do skuteczności rozrodu i jego skali.

## LEKARZ JAKO MANAGER W ZESPOLE ZRZĄDZAJĄCYM – NOWE PODEJŚCIE DO ZAGADNIENIŃ ZDROWOTNOŚCI STADA

### VET AS A MANAGER IN HERD MANAGERIAL TEAM – NEW APPROACH IN COWS HEALTH

Monika Zegiel

(mzegiel@kstkonsulting.com.pl)

Pojęcie „Lekarz manager” dla wielu osób wciąż brzmi abstrakcyjnie. Kierunek omawianej formy zarządzania jest jednak szeroko rozwinięty w krajach sąsiedzkich. Zauważa się, że wizerunek polskiego gospodarstwa rolnego zmienia się z każdym rokiem. Często zmiany dokonują się pod wpływem jednorazowych decyzji właściciela hodowli. Pozytywne zmiany zauważa się szczególnie w zakresie sposobu utrzymania, żywienia, selekcji oraz leczenia całego stada bydła mlecznego. Osoby odpowiedzialne za te obszary tworzą zespół zarządzający stadem. Wysokoprodukcyjne stado, jako cel sam w sobie, wymaga precyzyjnego określenia potrzeb zwierząt, aby podejmowane wysiłki przyniosły pozytywne efekty. Często obserwuje się jednak całkowity brak koordynacji podejmowanej pracy.

Zespół zarządzający, z biznesowego punktu widzenia, koordynuje ustalanie działań, a następnie monitoruje wynik ich wdrożenia. W ten sposób uczy się i wyciąga odpowiednie wnioski o dalszym postępowaniu. Lekarz weterynarii posiada wszystkie informacje dotyczące leczenia i profilaktyki stada i z tego względu często jest najbardziej zorientowaną osobą w zespole. Jego sugestie i wnioski mają olbrzymie znaczenie dla przyszłości produkcji. Ale czy lekarz jest w stanie przedstawić konkretne dane na poparcie swoich tez? W jaki sposób zespół powinien porozumiewać się, by inni jego członkowie mówili tym samym językiem? Jak sprawić, by od dziś, nie „gaszenie pożaru”, ale konkretne strategie uzgadniane na przyszłość dawały mierzalne, pozytywne efekty? Odpowiedzi pozornie wydają się proste.

Komputeryzacja wchodzi w każdą dziedzinę pracy i życia, czyniąc je bardziej wydajnymi i efektywnymi. Instrumentem służącym do kontroli zdrowotności, płodności oraz produkcji w stadzie bydła jest oprogramowanie InterHerd. Jest powszechnie stosowanym narzędziem przez rolników, doradców oraz lekarzy weterynarii w krajach UE. Odpowiada na stawiane pytania. Pozwala porównywać wyniki między stadami, kładzie nacisk na konsultacje. Należy dodać, że InterHerd został stworzony przez lekarzy i dla lekarzy weterynarii. Użytkownicy konfrontują posiadane obserwacje z obserwacjami kolegów żywieniowców, zootechników i selekcjonerów. Następnie za pomocą programu następuje ustalanie celów i monitoring zdarzeń. Ustalenie metodyki działań pozwala na dokładną analizę wskaźników, w szczególności tych które wypadają poniżej norm, a stanowią znaczne koszty dla gospodarstwa z finansowego, zdrowotnego, żywieniowego i rozrodczego punktu widzenia. Wygenerowane analizy weterynaryjne oraz raporty hodowlane uwzględniają wyniki próbnych udojów i przedstawione są w czytelnej formie: porównawczej, tabelarycznej lub graficznej. Całość pozwala na podejmowanie indywidualnych decyzji bezpośrednio ukierunkowanych na wysoką skuteczność każdego działania.

Czy możliwym jest, aby to lekarz decydował, kiedy i do których krów przyjedzie? Tak, ponieważ posiadając odpowiednią ilość właściwych informacji, jest w stanie zapobiec chorobie jeszcze przed jej widocznymi objawami.





**SEKCJA  
FIZJOLOGII I PATOLOGII  
PSÓW I KOTÓW**





## GUZ Z KOMÓREK TUCZNYCH (MASTOCYTOMA) – MOŻLIWOŚCI TERAPEUTYCZNE

### MAST CELL TUMOR (MCT) – THERAPEUTIC OPTIONS

Wojciech Hildebrand, Adriana Krupa

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, 50-366 Wrocław, pl. Grunwaldzki 47, e-mail: hildek@interia.eu*

Guz z komórek tucznych (mastocytoma) jest nowotworem wywodzącym się z komórek macierzystych szpiku. Komórki prekursorowe krążąc we krwi, osiągają tkanki docelowe takie jak skóra, błony śluzowe dróg oddechowych, przewodu pokarmowego, narządów moczowo-płciowych. Etiologia nie jest do końca poznana. Około 30% przypadków mastocytomy wywołane jest mutacją receptora c-kit. Według różnych autorów guzy z komórek tucznych stanowią od 7 do 21% wszystkich nowotworów skóry. Brak predyspozycji płciowej. Chorują zwierzęta w każdym wieku, najczęściej 8–9 letnie. Jako predysponowane wymienia się rasy: shar-pei, bokser, beagle, golden retriever, labrador, boston terier, rhodesian ridgeback, bulterier, jednak chorobę stwierdza się u bardzo wielu ras psów. Objawy kliniczne zależą od stopnia złośliwości guza. Najczęściej są to różnego rodzaju wykwity skórne, pojedyncze lub częściej mnogie, w postaci plamek, grudek guzków albo guzów, nierzadko wrzodziejących. W przypadku występowania guzów w obrębie dróg oddechowych lub przewodu pokarmowego objawy są charakterystyczne dla upośledzenia danego organu. Chorobie mogą towarzyszyć zespoły paranowotworowe związane z nadmiernym uwalnianiem histaminy, objawiające się zaburzeniami żołądkowo-jelitowymi (brak apetytu, wymioty, owrzodzenie żołądka). Charakterystyczny jest objaw Darriera polegający na zwiększaniu wielkości i zaczerwienieniu guza po mechanicznym ucisku, w związku z uwalnianiem miejscowym histaminy, nasilającej objawy zapalenia. Rozpoznanie stawia się na podstawie charakterystycznych objawów klinicznych oraz wyników badań histopatologicznych lub cytopatologicznych materiału pobranego ze zmian (wycinek, biopsja).

Leczenie zmian o niższym stopniu złośliwości polega na ich chirurgicznym usunięciu, zachowując przy tym odpowiednio duży margines tkanek zdrowych. Zmiany o wyższym stopniu złośliwości (II i III stadium złośliwości histologicznej) nie poddają z reguły się terapii chirurgicznej i konieczne jest stosowanie radioterapii lub chemioterapii. Chemioterapia oraz radioterapia stosowane są też często jako uzupełnienie zabiegu chirurgicznego (terapia neoadiuwantowa). Stosowana jest także sterydoterapia jako postępowanie paliatywne. W takich przypadkach używa się najczęściej prednizolonu w malejących dawkach od 2 do 0,25 mg/kg/dzień. W przypadkach rokujących na zahamowanie procesu nowotworowego wykorzystuje się leki cytostaticzne takie jak winblastyna, lomustyna lub cyklofosfamid w schematach jedno- lub wielolekowych. W terapii mastocytomy wynikającej z mutacji receptora c-kit zastosowanie znajduje masytynib i toceranib, które są inhibitorami kinazy tyrozynowej receptora c-kit. Ich działanie polega na zahamowaniu podziałów komórek w wyniku blokady receptora. Efektem jest zahamowanie wzrostu i redukcja masy guza (guzów). Stosując terapię przyczynową nie można zapominać o neutralizowaniu objawów zespołów paranowotworowych poprzez podawanie leków blokujących receptory H<sub>2</sub> komórek błony śluzowej żołądka (ranitydyna, cymetydyna, famotydyna), inhibitorów pompy protonowej (omeprazol) i leków działających powlekająco (sukralfat).

Odpowiednio dobrana terapia może spowodować wyleczenie psa lub długotrwałą remisję zapewniającą zwierzęciu normalne funkcjonowanie.



## NADCZYNNOŚĆ TARCZYCY U KOTÓW

### FELINE HYPERTHYROIDISM

**Roman Lechowski**

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159, e-mail: [roman\\_lechowski@sggw.pl](mailto:roman_lechowski@sggw.pl)*

Nadczynność tarczycy u kotów (NT) jest chorobą podstępna, o której trzeba pamiętać, że istnieje nie tylko po to, żeby ją rozpoznać, ale może przede wszystkim, aby w ogóle umieścić ją na liście rozpoznań różnicowych u chorego kota z bardzo zróżnicowanymi objawami klinicznymi. O tym jak rzadko objawy NT są traktowane jako chorobowe, niech świadczy fakt, że właściciele z chorymi na NT kotami trafiają do lekarza weterynarii średnio po roku od wystąpienia pierwszych objawów choroby. Praktycznie choroba nie występuje u kotów <5–7 roku życia i jest najczęstszą endokrynopatią u zwierząt 12–14-letnich. Przyczyny NT nie są jasne. W 97% zmiany w tarczycy mają charakter łagodny, w 2–3% są wynikiem nowotworów złośliwych. Ryzyko zachorowania wzrasta z wiekiem. Częstotliwość występowania NT jest zmienna i zależy od miejsca prowadzonych badań. W Polsce badania Gójskiej [2011, dane niepublikowane] przeprowadzone wśród kotów chorych w aglomeracji warszawskiej wykazały u zwierząt >7-letnich NT u 20,44% zwierząt. Dane z innych krajów są bardzo zróżnicowane od 1,53% (Hiszpania) do 11,92% (Wielka Brytania). Objawy kliniczne NT są bardzo zróżnicowane i niecharakterystyczne. Podstawowym jest utrata masy ciała. Inne objawy obejmują zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego, krążenia. U większości zwierząt istnieje nadciśnienie tętnicze, u 95% – stwierdzone jest wole. Podstawowym badaniem przesiewowym jest określenie poziomu całkowitej tyroksyny (tF4) w surowicy. Nie jest to badanie swoiste. Najczulszym badaniem jest badanie radioizotopowe z użyciem znakowanego izotopu technetu (Tc99). Leczenie obejmuje postępowanie chirurgiczne (usunięcie gruczołu(-ów), postępowanie zachowawcze (matamizol) oraz zastosowanie izotopów radioaktywnego jodu I131. W tym ostatnim przypadku postępowanie może być przeprowadzone w specjalistycznym ośrodku i tylko po scyntygraficznym potwierdzeniu NT. W ostatnim okresie dostępna jest na rynku specjalistyczna dieta przeznaczona dla kotów z NT. Drastyczne ograniczenie zawartości jodu w tej diecie sprawia, że stanowi ona alternatywę dla zabiegu chirurgicznego, leczenia farmakologicznego.



## BIOTECHNIKI W ROZRODZIE MAŁYCH ZWIERZĄT – STAN WIEDZY, PERSPEKTYWY I WYZWANIA

### ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNIQUES IN SMALL ANIMALS – STATE OF ART, PERSPECTIVES AND CHALLENGES

Wojciech Nizański

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław, e-mail: wojciech.nizanski@up.wroc.pl

W ostatnich latach obserwuje się w świecie, w tym w Polsce, szczególne zainteresowanie naukowe zagadnieniami rozrodu u zwierząt kotowatych. Wynika to z dwóch przyczyn. Po pierwsze, od kilku dekad wzrasta populacja wartościowych pod względem hodowlanym kotów rasowych. W wyniku tego rośnie zapotrzebowanie na stosowanie u tego gatunku technik wspomaganego rozrodu, wzorem psa domowego. Kojarzenie osobników dobranych pod względem hodowlanym, konserwacja i transport gamet oraz tworzenie rezerwy genetycznej cennych samców to wymóg dzisiejszych czasów, podyktowany zapotrzebowaniem ze strony ogromnej rzeszy hodowców kotów. Po drugie, wyniki prac dotyczących rozrodu kota domowego stanowią ważną bazę naukową, możliwą do aplikacji w dziedzinie rozrodu dzikich kotowatych. Populacja dzikich kotowatych jest alarmująco niska, a wszystkie ich gatunki zagrożone są obecnie wyginieciem. Dlatego prace dotyczące praktycznych metod wspomaganego rozrodu kota domowego są niezwykle cenne z punktu widzenia możliwości wdrożenia biotechnik reprodukcyjnych celem ratowania populacji zwierząt dzikich. Prowadzenie doświadczeń na zwierzętach dziko żyjących bowiem jest z oczywistych względów niezwykle trudne lub niemożliwe.

Podstawowymi biotechnikami rozrodu znajdującymi w perspektywie zastosowanie w zakresie potrzeb dotyczących hodowli kota domowego, jak i ratowania populacji dzikich kotowatych są pobieranie i konserwacja nasienia, sztuczna inseminacja, pobieranie i dojrzewanie oocytów *in vitro*, zapłodnienie pozaustrojowe oraz transfer zarodków, docytoplazmatyczna iniekcja plemnika ICSI i klonowanie. Nasienie dotychczas pobierane było zwykle za pomocą elektroejakulacji lub sztucznej pochwy, a obecnie coraz częściej przy użyciu cewnika urologicznego po podaniu medetomidyny, stymulującej wyrzut plemników do cewki moczowej [1]. Współcześnie prace wielu ośrodków skupiają się na optymalizacji postępowania przy procedurze kriokonserwacji oocytów i zarodków oraz na doskonaleniu technik dojrzewania i zapłodnienia *in vitro*. Ciągłe dużym ograniczeniem powszechniejszego wprowadzenia obrotu nasieniem jest technicznie trudny zabieg inseminacji domacicznej.

U psów powszechnie stosowane w praktyce weterynaryjnej są zabiegi pobierania nasienia, jego konserwacji i transportu w stanie płynnym i w niskich temperaturach oraz sztucznej inseminacji. Zarówno w Ameryce Północnej, jak i w Europie (w tym w Polsce) działają sieci banków nasienia psów reproduktorów. Powszechnie stosowana i drobiazgowo opracowana jest metoda ustalania optymalnego terminu unasienniania za pomocą badania cytologicznego wymazów pochwowych, pomiarów stężenia progesteronu we krwi obwodowej, waginoskopii i badania ultrasonograficznego jajników. Trudny technicznie zabieg inseminacji domacicznej wykonywany jest w praktyce przez rosnącą rzeszę lekarzy weterynarii za pomocą techniki skandynawskiej, a obecnie coraz częściej z zastosowaniem wizualizacji szyjki macicznej za pomocą endoskopu sztywnego z kanałem roboczym. Wykazano, że inseminacja dopochwowa nasieniem poddanym kriokonserwacji nie przynosi satysfakcjonujących wskaźników płodności i plenności samic. Jak dotychczas próby zastosowania technik zaawansowanych, np. zapłodnienia pozaustrojowego u psów nie przyniosły zadowalających wyników. Spowodowane jest to w głównej mierze specyficzną fizjologią procesu owulacji oraz dojrzewania oocytów i zarodków u psowatych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Filliers M. et al., 2010. In vitro evaluation of fresh sperm quality in tomcats: A comparison of two collection techniques. *Theriogenology*, 74, 31–39.

Opracowanie wykonane w ramach projektu finansowanego przez MNiSW / NCN N N308 576540.





## NIEFARMAKOLOGICZNE SPOSOBY LECZENIA CHORÓB UKŁADU KRĄŻENIA

### NONPHARMACOLOGICAL TREATMENT OF CARDIAC DISEASES

Urszula Paśławska<sup>1</sup>, Agnieszka Noszczyk-Nowak<sup>1</sup>, Adrian Janiszewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław

<sup>2</sup>Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy, ul. Kamińskiego 73a, 51-124 Wrocław

Niefarmakologiczne sposoby leczenia chorób układu krążenia możemy podzielić zasadniczo na dwie grupy: zabiegi przezskórne i terapię zaburzeń rytmu serca. Do grupy zabiegów przezskórnych zaliczane są: plastyka balonowa, implantacja stentów oraz zabiegi z użyciem urządzeń do embolizacji naczyń i przecieków wewnątrzsercowych. Balonoplastyka to mało inwazyjne zabiegi przy użyciu cewników naczyniowych zakończonych wysokociśnieniowym balonem. Tą techniką najczęściej poszerzane jest zastawkowe zwężenie tętnicy. Plastyka balonowa jest również skutecznym sposobem mało inwazyjnej fenestracji worka osierdziowego. W ostatnich latach są coraz szerzej stosowane w leczeniu wrodzonych oraz nabytych wad serca i naczyń wewnątrznacyniowe systemy zamykające. Urządzenia typu coil są najczęściej wykorzystywane do zamykania przetrwałego przewodu tętniczego lub nieprawidłowych połączeń wrotno-obocznych, szczególnie wewnątrzwątrobowych. Urządzenia typu amplatzer; Amplatzer Vascular Plug oraz Amplatzer Septal Occluder używane są również do embolizacji przewodu Botalla oraz do zamykania ubytków w przegrodzie międzykomorowej i międzyprzedsionkowej.

Wśród niefarmakologicznych metod leczenia zaburzeń rytmu serca stosowane są: terapia bradyarytmii za pomocą sztucznego stymulatora serca, kardiowersja elektryczna oraz ablacja prądem o częstotliwości radiowej (RF). Kardiowersja elektryczna jest zabiegiem mającym na celu przywrócenie prawidłowego rytmu serca dzięki energii elektrycznej. Polega ona na wyzwoleniu impulsu elektrycznego zsynchronizowanego z zespołem QRS pacjenta, w celu częściowej depolaryzacji mięśnia sercowego. Kardiowersję wykonuje się najczęściej u psów ras dużych i olbrzymich, u których spotyka się migotanie przedsionków bez współistniejącej organicznej choroby serca. Niefarmakologiczne leczenie zaburzeń rytmu serca za pomocą ablacji RF polega na trwałym zniszczeniu ogniska arytmii. Następuje to po ustaleniu dokładnej lokalizacji źródła zaburzeń rytmu serca za pomocą elektrody mapującej. W Pracowni Kardiologii Katedry Chorób Wewnętrznych przeprowadzono skuteczny zabieg ablacji częstoskurczu węzłowego u psa i planowane są kolejne zabiegi u psów z napadowym częstoskurczem komorowym.



## ZASTOSOWANIE KLINICZNE PREPARATU SUPRELORIN® U PSÓW I KOTÓW

### CLINICAL USE OF SUPRELORIN® IN DOGS AND CATS

Tom Rijsselaere

*Ghent University, Merelbeke, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Reproduction, Obstetrics and Herd Health, e-mail: tom.rijsselaere@ugent.be*

Suprelorin® jest preparatem zarejestrowanym do okresowej, chemicznej kastracji psów samców. Jego substancją czynną jest agonista GnRH – deslorelin. Gonadoliberyna podwzgórzowa (GnRH) reguluje wydzielanie wielu różnych hormonów, m.in. folikulotropiny (FSH), która oddziałuje na komórki Sertoliego oraz luteotropiny (LH) stymulującej komórki Leydiga do produkcji testosteronu. Agoniści GnRH działają dwuetapowo, w pierwszej fazie powodując wzrost wydzielania FSH i LH, a w konsekwencji poziomu testosteronu ('flare-up' effect), a następnie, stale uwalniane niewielkie dawki desloreliny, prowadzą do obniżenia reaktywności przysadki mózgowej, a co za tym idzie spadku produkcji FSH i LH. W efekcie dochodzi do spadku syntezy i uwalniania FSH, LH oraz testosteronu niezbędnych do produkcji nasienia.

Suprelorin® jest dostępny jako ulegający biodegradacji implant, przeznaczony do podawania podskórnego, który w sposób kontrolowany uwalnia GnRH. Obecnie na rynku dostępne są dwa rodzaje implantów: Suprelorin® 4,7 mg oraz 9,4 mg. Suprelorin® 4,7 mg hamuje produkcję testosteronu przez co najmniej 6 miesięcy; natomiast implant 9,4 mg przez co najmniej 1 rok. U psów Suprelorin® powoduje spadek poziomu testosteronu i libido, zmniejszenie wielkości i elastyczności jąder, obniżenie produkcji plemników oraz ich ruchliwości, co prowadzi do okresowej niepłodności. Azoospermia pojawia się pomiędzy 4. a 6. tygodniem od wprowadzenia implantu. Okres stłumienia odruchów płciowych różni się osobniczo, ale zwykle czas ten jest dłuższy u psów ras mniejszych. Badania kliniczne wykazały, że poziom testosteronu wraca do normy w ciągu 12 miesięcy u 80%, a w ciągu 18 miesięcy u 98% poddanych terapii psów. Od momentu osiągnięcia fizjologicznego poziomu testosteronu do powrotu pełnej płodności upływa zwykle kilka tygodni, ze względu na fakt, że spermatogeneza u psów trwa 7–9 tygodni.

Obecnie, Suprelorin® jest zarejestrowany tylko do kastracji chemicznej psów samców. Przeprowadzono również badania nad jego zastosowaniem u kotów. Niemieccy badacze [Goericke-Pesch i wsp. 2011] podawali Suprelorin® 4,7 mg podskórnie u 10 kocurów, a następnie oceniali u nich poziom testosteronu, objętość jąder, obecność kolców na prąciu i zachowanie (libido, odruchy płciowe oraz znaczenie terenu). U 9/10 kotów stwierdzono zupełne zahamowanie funkcji przysadki po 11 tygodniach, a wielkość jąder zmniejszyła się o więcej niż 50% średnio po 12 tygodniach. Kolce na prąciu, których obecność jest uwarunkowana poziomem testosteronu, zanikały po ok. 9 tygodniach. Libido, odruchy płciowe i znaczenie terenu, po początkowym nasileniu, ulegały znaczącemu wyhamowaniu po 11–16 tygodniach. Azoospermia występowała po 6 tygodniach, natomiast czas trwania chemicznej kastracji był osobniczo zmienny (6–24 miesiące). Sam implant był dobrze tolerowany i zanotowano jedynie nieliczne efekty uboczne.

W chwili obecnej prowadzonych jest wiele badań mających na celu ocenę, czy związek ten może być stosowany w przypadku innych problemów klinicznych, m.in. zapobiegania rui czy jej wywoływania, problemach behawioralnych, czy też leczenia schorzeń prostaty u samców, nietrzymania moczu lub guzów listwy mleczej u samic. Niektóre wyniki, mimo że bardzo obiecujące, wymagają dalszych badań, celem ich potwierdzenia. W ostatnim czasie ukazał się bardzo ciekawy artykuł przeglądowy autorstwa Fontaine i Fontbonne [1] na temat możliwych zastosowań agonistów GnRH.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Fontaine E., Fontbonne A., 2011. Clinical use of GnRH agonists in canine and feline species. *Reproduction in Domestic Animals*, 46, 344–353.
- [2] Goericke-Pesch S., Georgiev P., Antonov A., Albouy M., Wehrend A., 2011. Clinical efficacy of a GnRH-agonist implant containing 4.7 mg deslorelin, Suprelorin®, regarding suppression of reproductive function in tomcats. *Theriogenology*, 75, 803–810.



## ZNIECZULENIE PRZYKRĘGOWE KOŃCZYNY PIERSIOWEJ PSA POD KONTROLĄ USG – BADANIA WSTĘPNE

### PARAVERTEBRAL ANESTHESIA OF THE DOG'S THORACIC LIMB UNDER ULTRASONOGRAPHIC GUIDANCE – PRELIMINARY STUDY

Wojciech Atamaniuk, Maja Drożdżyńska, Izabela Janus

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Pracownia Diagnostyki Obrazowej Katedry i Kliniki Chirurgii,  
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: atamaniuk@o2.pl

Splot barkowy (*plexus brachialis*) psa utworzony jest przez gałęzie do brzuszne nerwów rdzeniowych C6-Th2. W obrębie splotu barkowego dochodzi do wymiany gałęzi nerwowych, tak że nerwy obwodowe opuszczające splot barkowy utworzone są najczęściej z więcej niż jednego nerwu rdzeniowego. Gałęzie wychodzące ze splotu unerwiają szereg struktur kończyny piersiowej oraz klatki piersiowej.

Przeprowadzanie zabiegów w obrębie stawu barkowego i okolicy ramiennej psa wymaga zastosowania znieczulenia ogólnego, ponieważ nie została dotychczas opracowana metoda znieczuleń miejscowych wywołujących bezbolesność i arefleksję tych okolic przy zachowaniu względnego bezpieczeństwa oddechowo-kръżeniowego.

Przeprowadzono badania mające na celu opracowanie obrazu ultrasonograficznego kręgosłupa szyjnego i piersiowego oraz struktur otaczających, umożliwiające dalsze badania nad przeprowadzaniem znieczuleń przykręgowych kończyny piersiowej psa pod kontrolą USG.

Przy odwiedzonej doogonowo kończynie oraz przyłożeniu sondy od strony bocznej możliwe było zobrazowanie odcinka szyjnego kręgosłupa aż do kręgu C7. Doogonowo od wyrostka poprzecznego C7 widoczny był doczaszkowy brzeg łopatki leżący bardziej powierzchniowo od kręgow. Obrócenie sondy o 90 stopni umożliwiło zobrazowanie kręgow w przekroju poprzecznym. Uwidoczniono wyrostki poprzeczne, trzony kręgow oraz przestrzenie międzykręgowe.

Po przyłożeniu sondy od strony dogrzbietowej w pośrodkowej linii grzbietu uwidoczniono wyrostki kolczyste pierwszych kręgow piersiowych. Zmiana kąta ustawienia sondy w kierunku bocznym pozwoliła na zobrazowanie trzonów kręgow oraz ich wyrostków poprzecznych.

Dzięki przeprowadzonym badaniom i określeniu metod przeprowadzania wkłuc przykręgowych pod kontrolą USG w okolicy nerwów rdzeniowych C6-Th1 możliwe będą dalsze etapy badania do oceny przydatności opracowanej metody w anestezjologii weterynaryjnej.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Marhofer P., Greher M., Kapral S., 2005. Ultrasound guidance in regional anaesthesia. *British Journal of Anaesthesia*, 94 (1), 7–17.
- [2] Denny N. M., Harrop-Griffiths W., 2005. Location, location, location! Ultrasound imaging in regional anaesthesia. *British Journal of Anaesthesia*, 94 (1), 1–2.



## OCENA WYSTĘPOWANIA DYSPLAZJI STAWÓW BIODROWYCH I ŁOKCIOWYCH ORAZ WAD NARZĄDU WZROKU U OW CZARKÓW NIEMIECKICH

### OCURANCE OF CANINE HIP DYSPLASIA, ELBOW DYSPLASIA AND OCULAR ABNORMALITIES IN GERMAN SHEPHERD DOG

Ireneusz Balicki<sup>1</sup>, Renata Komsta<sup>2</sup>, Piotr Silmanowicz<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt, <sup>2</sup>Pracownia Radiologii i Ultrasonografii, e-mail: balicki.ireneusz@gmail.com

**Cel badań:** Ocena występowania dysplazji stawów biodrowych lub/i łokciowych oraz wad narządu wzroku u owczarków niemieckich.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 93 owczarki niemieckie – 83 samce i 10 suk, w wieku od 1,5 do 12 lat. Wszystkie zwierzęta były psami pracującymi. Do oceny radiologicznej stawów biodrowych wykorzystano standardową projekcję przyjętą przez Związek Kynologiczny. Stawy łokciowe oceniano wg skali przyjętej przez The International Elbow Working Group. Badanie okulistyczne wykonano przy użyciu lampy szczylinowej, oftalmoskopu bezpośredniego, pośredniego i oftalmoskopu PanOptik oraz tonometru. Fotografie dna oka wykonywano fundus kamerą połączoną z komputerem mającym oprogramowanie umożliwiające bezpośrednią analizę badanych obszarów dna oka oraz katalogowanie wyników poszczególnych badań.

**Wyniki i omówienie:** Badania stawów biodrowych i łokciowych wykazały, że wolnych od zmian dysplazycznych było 14 zwierząt (15%). U 71 psów (76%) stwierdzono dysplazję stawów biodrowych, z czego u 33 osobników (35%) choroba ta występowała łącznie z dysplazją stawów łokciowych. Samodzielnie występującą dysplazję stawów łokciowych wykazano tylko u 8 zwierząt (8,6%). U żadnego z badanych psów nie stwierdzono objawów kulawizny.

Wady narządu wzroku stwierdzono u 29 owczarków niemieckich, co stanowi 30,8% osobników. U 21 psów (22,6%) rozpoznano retinopatie siatkówki (12 jednostronnych retinopatii i 9 dwustronnych). Po jednym przypadku odnotowano występowanie: wieloogniskowej dysplazji siatkówki, geograficznej dysplazji siatkówki, zwyrodnienia siatkówki (PRA), przetrwałej błony źrenicznej, keratopatii lipidowej. Również u jednego pacjenta stwierdzono obecność skórzaka rogówki. W dwu przypadkach rozpoznano zaćmę soczewki.

Występowanie retinopatii siatkówki wykazano u 9 psów chorujących na dysplazję stawów biodrowych i łokciowych, u 7 – dysplazję stawów biodrowych oraz u 3 – dysplazję stawów łokciowych. Tylko 3 retinopatie występowały u psów, u których nie rozpoznano dysplazji stawów biodrowych lub łokciowych.

Dysplazje stawów biodrowych i łokciowych są często występującymi chorobami owczarków niemieckich i mogą przebiegać bez klinicznie uchwytnych objawów kulawizny. Zwyrodnienia i dysplazje siatkówki są rzadko występującymi chorobami okulistycznymi u tej rasy psów. Wykazana zależność pomiędzy występowaniem retinopatii siatkówki a dysplazją stawów biodrowych lub/i łokciowych wymaga dalszych badań.



## RYNOSKOPIA JAMY NOSOWEJ KOTÓW

## RHINOSCOPY OF THE NASAL CAVITY OF THE CATS

Karolina Barszcz<sup>1</sup>, Wojciech Kowalczyk<sup>2</sup>, Marta Kupczyńska<sup>1</sup>, Michał Wąsowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Morfologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

<sup>2</sup>Przychodnia Weterynaryjna ENDOVET, ul. POW 24, 05-600 Grójec, e-mail: karolina.barszcz@onet.eu

Choroby jamy nosowej kotów stwarzają wiele problemów diagnostycznych i terapeutycznych. Badanie ry-noskopowe najczęściej w sposób jednoznaczny umożliwia wykrycie przyczyny dolegliwości, znacznie skraca proces diagnostyczny jak również pozwala na podjęcie i monitorowanie leczenia.

**Cel pracy:** Przegląd wyników otrzymanych w badaniu ry-noskopowym.

**Materiał i metody:** Obserwacje przeprowadzono w Przychodni Weterynaryjnej „ENDOVET” na grupie 50 kotów. W premedykacji stosowano jednocześnie: medetomidynę, butorfanol, ketaminę zgodnie z zaleca-nymi dawkami dla gatunku. Indukcję przeprowadzano przy użyciu rozcieńzonej 0,9% roztworem miesza-niny medetomidyny z ketaminą. Zwierzęta do badań układano na mostku w pozycji piersiowo-grzbietowej. U każdego osobnika badanie przeprowadzono w dwóch projekcjach, określanych jako: ry-noskopia z inwers-ją (ry-noskopia tylna) oraz ry-noskopia wstępująca (ry-noskopia przednia). Pierwszą wykonano przy użyciu endoskopu giętkiego OLYMPUS BF IC20 z końcówką roboczą o długości 60 cm, średnicy 6 mm i kanałem roboczym o średnicy 2,8 mm. Sondę wprowadzano przez jamę ustną, gardło i nozdrza tylne. W trakcie dru-giej posługiwano się endoskopem sztywnym Rudolf Wolf 8616.07, z sondą o średnicy 3 mm oraz kanałem ro-boczym o średnicy 1,1 mm. To badanie rozpoczynano od nozdrzy przednich. Oba urządzenia miały płaszcz wodny.

**Wyniki i omówienie:** Wskazaniem do wykonania ry-noskopii były obserwowane od dłuższego czasu objawy sugerujące zmiany na terenie jamy nosowej. Zastosowano schemat badania według opracowania wła-snego [1]. W przebadanej grupie kotów najczęściej odnotowano obecność ciał obcych. Drugą grupę chorób jamy nosowej stanowiły nowotwory. Przeprowadzone badania histopatologiczne pobranych wycinków wy-kazały obecność guzów komórek tucznych (*mastocytoma*) oraz chłoniaków (*lymphoma*). Na podkreślenie za-sługują 3 osobniki. W trakcie ry-noskopii z inwersją obserwowano u nich zamknięcie światła nozdrzy tylnych przegrodą utworzoną z błony śluzowej. W dostępnej literaturze brak jest doniesień o podobnych patologich. Podkreślić również należy, że w odniesieniu do kotów, inaczej niż u psów, nie stwierdzono zmian grzybi-czych. Podobne objawy kliniczne stwierdzane w różnych chorobach jamy nosowej wymagają zastosowania wielu badań dodatkowych [2, 3]. Najczęściej wykonywane są zdjęcia radiologiczne, które w wielu przypad-kach nie pozwalają na jednoznaczne rozpoznanie. Niezwykle pomocna jest wówczas ry-noskopia.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Kupczyńska M., 2007. Anatomia kliniczna jamy nosowej i zatoki czołowej psa domowego (*Canis lupus f. domestica*), SGGW, Warszawa.
- [2] Hedlund C., Taboada J., 2001. Clinical Atlas of Ear, Nose and Throat Diseases. Schlütersche, Hannover.
- [3] Tamas T.R., 1999. Small Animal Endoscopy. Mosby, St. Louis.





## RYNOSKOPIA JAMY NOSOWEJ PSÓW – CIAŁA OBCE

### RHINOSCOPY OF THE NASAL CAVITY OF THE DOGS – FOREIGN BODIES

Karolina Barszcz<sup>1</sup>, Wojciech Kowalczyk<sup>2</sup>, Marta Kupczyńska<sup>1</sup>, Michał Wąsowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Morfologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

<sup>2</sup>Przychodnia Weterynaryjna ENDOVET, ul. POW 24, 05-600 Grójec  
e-mail: karolina.barszcz@onet.eu

Licznym chorobom jamy nosowej psów towarzyszą jednakowe lub podobne objawy kliniczne. Spośród czynników etiologicznych je wywołujących istotną rolę odgrywają ciała obce.

**Cel pracy:** Przegląd przypadków klinicznych ze stwierdzonymi podczas rynoskopii ciałami obcymi.

**Materiał i metody:** Obserwacje przeprowadzono w Przychodni Weterynaryjnej „ENDOVET” na grupie 50 psów. W premedykacji stosowano jednocześnie: medetomidynę i butorfanol zgodnie z zalecanymi dawkami dla gatunku. Indukcję przeprowadzano przy użyciu propofolu. Zwierzęta układano na mostku w pozycji piersiowo-grzbietowej. U każdego osobnika badanie przeprowadzono w dwóch projekcjach, określanych jako: rynoskopia z inwersją (rynoskopia tylna) oraz rynoskopia wstępująca (rynoskopia przednia). Pierwszą wykonano przy użyciu endoskopu giętkiego OLYMPUS BF IC20 z końcówką roboczą o długości 60 cm, średnicy 6 mm i kanałem roboczym o średnicy 2,8 mm. Sondę wprowadzano przez jamę ustną, gardło i nozdrza tylne. W trakcie drugiej posługiwano się endoskopem sztywnym Rudolf Wolf 8616.07, z sondą o średnicy 3 mm oraz kanałem roboczym o średnicy 1,1 mm. To badanie rozpoczynano od nozdrzy przednich. Oba urządzenia miały płaszcz wodny.

**Wyniki i omówienie:** W omawianych przypadkach klinicznych wskazaniem do wykonania zabiegu były obserwowane od dłuższego czasu następujące objawy: wypływ z nozdrzy przednich, kichanie oraz utrudnione oddychanie. W trakcie rynoskopii przyjęto tok zgodny z uwarunkowaniami anatomicznymi i schematem opracowanym w badaniach własnych [1]. W przebadanej grupie psów stwierdzono przede wszystkim fragmenty różnych roślin. Rynoskopia pozwoliła również na zdiagnozowanie, w różnym stadium rozwoju, grzybicy, którą najczęściej u psów wywołuje *Aspergillus fumigatus* [2, 3]. Za bardzo ciekawy należy uznać przypadek obecności *Pneumonyssoides caninum*. Według danych z literatury obecność tego roztocza u psów opisano w wielu krajach reprezentujących różne strefy zoogeograficzne i klimatyczne. W Polsce jest to pierwszy udokumentowany przypadek. Ciała obce znajdujące się na terenie jamy nosowej powodują powstanie stanu zapalnego z charakterystycznymi dla niego objawami. Należy stwierdzić, że w badanej populacji psów właściwą metodą umożliwiającą stwierdzenia obecności ciał obcych była rynoskopia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kupczyńska M., 2007. Anatomia kliniczna jamy nosowej i zatoki czołowej psa domowego (*Canis lupus f. domestica*). SGGW, Warszawa.
- [2] Hedlund C., Taboada J., 2001. Clinical Atlas of Ear, Nose and Throat Diseases. Schlütersche, Hannover.
- [3] Tamas T.R. 1999. Small Animal Endoscopy. Mosby, St. Louis.



## WYSTĘPOWANIE ZAKAŻEŃ CORONAWIRUSOWYCH U KOTÓW POCHODZĄCYCH Z WROCŁAWIA I OKOLIC W LATACH 2006–2011

### OCCURRENCE OF CORONAVIRUS INFECTIONS IN CATS FROM WROCŁAW AND THE REGION IN THE YEARS 2006–2011

Karolina Bierowiec<sup>1</sup>, Krzysztof Rypuła<sup>1</sup>, Katarzyna Płoneczka-Janeczko<sup>1</sup>, Grzegorz Sapikowski<sup>2</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: krzysztof.rypula@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław

Zakażenia coronawirusowe – FCoV są szeroko rozpowszechnione w populacji kotów. Pod względem chorobotwórczości wirus ten dzieli się na dwa biotypy: jelitowy – FECV (ang. feline enteric coronavirus), dominujący w populacji. Powoduje zakażenia bezobjawowe lub biegunkę. Z kolei biotyp wywołujący FIP, potocznie zwany „fipogennym” – FIPV, jest mutantem delecyjnym biotypu jelitowego, występuje znacznie rzadziej, ale powoduje niemal bez wyjątku śmiertelną chorobę [1].

**Materiał i metody:** W latach 2006–2011 w Katedrze Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej we Wrocławiu zostały przeprowadzone badania mające na celu określenie stopnia rozpowszechnienia zakażeń coronawirusowych wśród kotów pochodzących z Wrocławia i okolic. Łącznie przebadano 457 zwierząt. W 393 przypadkach materiałem do badań była surowica, w której miano przeciwciał określano za pomocą testu immunofluorescencji pośredniej Screen Fluo FCoV (Mega Cor, Austria). W przypadku podejrzenia wysiękowej formy FIP – 64 przypadki – materiał stanowił płyn wysiękowy pobierany z jamy brzusznej lub opłucnowej. Zakażenia FCoV stwierdzano, stosując test immunofluorescencji bezpośredniej (DIF) z anti-FCoV serum FITC-FIP (VMRD, USA). Wynik badania obserwowano w mikroskopie fluorescencyjnym Nikon Eclipse E400 (Japan).

**Wyniki i omówienie:** Z przeprowadzonych badań wynika, iż dodatni wynik uzyskano u 39,6% przebadanych osobników. Z czego 43% pozytywnych wyników otrzymano przy zastosowaniu IIF, biorąc pod uwagę miano przeciwciał  $\geq 1:100$ . Wynik dodatni przy wykorzystaniu metody DIF stwierdzono u 18,7%. Analiza zwierząt pod względem płci, wieku, rasy i sposobu utrzymania wykazała, że częściej wynik pozytywny uzyskiwano u samic, osobników rasowych oraz utrzymywanych grupowo. Natomiast nie zauważono znaczących różnic, jeżeli chodzi o wiek zwierząt. Ze względu na znaczne rozpowszechnienie biotypu jelitowego w populacji kotów i niemożność rozróżnienia biotypów za pomocą metod serologicznych powyższe badania są tylko orientacyjną informacją o rozpowszechnieniu coronawirusów. Odnosząc się do podobnych badań przeprowadzonych w latach 2000–2004 na tym samym terenie, zauważalny jest znaczący wzrost liczby kotów – ponad trzykrotny, które wykazują wysokie miano przeciwciał przeciw FCoV w badaniu IIF lub wynik dodatni płynu wysiękowego metodą DIF [2].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Frymus T., 2005. Wirusowe, bakteryjne, grzybicze i prionowe choroby kotów. 1st Ed., Psychoedukacja, Warszawa, 47–60.
- [2] Rypuła K., Płoneczka K., 2005. Prevalenz der Coronavirusinfektion bei den Katzen aus dem Niederschlesiengebiet (Wrocław Und die Umgebung), Procc. 51. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin, 17–20.11.2005, Berlin 2, 43–44.



## ZASTOSOWANIE EKSPANDERA OSMOTYCZNEGO W LECZENIU DUŻYCH UBYTKÓW SKÓRY

### THE USE OF OSMOTIC EXPANDER IN THE TREATMENT OF LARGE DEFECTS OF THE SKIN

Janusz Bieżyński, Natalia Kościółek, Anita Piątek

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław,  
e-mail: biezyn@poczta.fm

Chirurgia plastyczna znajduje coraz większe zastosowanie w medycynie weterynaryjnej, głównie w przypadkach leczenia ubytków skóry powstałych na różnym podłożu. W tego typu zabiegach doskonale zastosowanie mają ekspandery osmotyczne składające się z aktywnego hydrożelu, mającego właściwości absorpcji płynów ustrojowych. Jest to możliwe dzięki wykorzystaniu zjawiska osmozy, które poprzez wytworzenie dużych ciśnień hydrostatycznych, umożliwia dostarczenie odpowiedniej ilości ciśnienia i wody, mających na celu rozciągnięcie tkanek. Fakt, że tkanki zwierzęce, w tym skóra, składają się głównie z wody, umożliwia ich rozciągnięcie w celu uzyskania np. „nadmiaru skóry” służącego do pokrycia istniejących defektów.

**Opis przypadku:** Suka rasy bokser w wieku 6 lat trafiła w kwietniu 2008 r. do Katedry i Kliniki Chirurgii z rozległą raną okolicy grzbietu, powstałą w 2007 r. w czasie zabiegu skrętu żołądka. W czasie operacji pies leżał na kocu elektrycznym, który spowodował rozległe oparzenie skóry. Tydzień od zabiegu skóra w tym obszarze stwardniała, zaczęła pękać i sączyć się. Przez około 1,5 miesiąca zmienione fragmenty były systematycznie wycinane. W tym czasie stosowano toaletę rany przy użyciu środka z chlorheksydyną i dodatkowo stosowano miód manuka oraz wyciąg z eukaliptusa, skutkiem czego rana po pewnym czasie zaczęła ziarninować. W kwietniu 2008 r. w Katedrze i Klinice Chirurgii wykonano plastykę i odświeżenie rany oraz zaczęto stosować m.in. takie preparaty jak Solcoseryl, Chitopan, Contratubex, Argosulfan, srebro koloidowe oraz różnego rodzaju opatrunki hydrożelowe. W listopadzie 2008 r. zdecydowano się na założenie matrycy AcelVet, która jednak nie przyniosła zamierzonych efektów. W okresie od listopada 2008 do listopada 2009 wykonywane były liczne zabiegi odświeżania i plastyki rany. W tym czasie stosowano m.in. olej z rokitnika. W listopadzie 2009 r. wykonano zabieg wszycia prostokątnego ekspandera osmotycznego w rozmiarze 30 ml. Początkowo przy użyciu szablonu zaznaczono pozycję ekspandera w odpowiedniej lokalizacji. Po odkażeniu pola operacyjnego wykonano nacięcie i odpreparowano skórę, tworząc w ten sposób kieszeń wielkości równej dwóm objętościom ekspandera. Następnie wprowadzono do niej ekspander, a tkanki zespolono. W okresie 10 dni od zabiegu stosowano opatrunek, który miał na celu zapobieganie przesuwaniu się ekspandera podczas pierwszego etapu rozprężania. Po 10 dniach ściągnięto opatrunek oraz szwy, a ekspander pozostawiono na okres około 3 miesięcy. W tym czasie zwiększał on stopniowo swoją objętość aż do 300 ml, powodując tym samym systematyczne i powolne rozciąganie skóry. Na początku marca 2010 r. wykonano zabieg usunięcia ekspandera łącznie z wycięciem blizny i plastyką rany.

**Omówienie:** Trwające ponad 2 lata zabiegi odświeżania i plastyki powstałej rany miały na celu doprowadzenie do całkowitego jej wygojenia i usunięcia rozległej blizny. Zabiegi na poszczególnych etapach leczenia zmniejszały ich rozmiar, jednak ze względu na spory zasięg nie doprowadziły do całkowitego wygojenia. Zastosowanie ekspandera osmotycznego umożliwiło rozciągnięcie skóry w okolicy istniejącego defektu, w wyniku czego stało się możliwe całościowe jego wycięcie i pokrycie naciągniętą uprzednio skórą. Ekspander osmotyczny, dzięki swoim właściwościom, nie wymagał ręcznego dopełniania, przez co zaoszczędził pacjentowi dyskomfortu związanego z okresowym rozszerzaniem do dużej objętości, w porównaniu z powolnym, ciągłym procesem rozszerzania. Z tego też względu można go uznać za praktyczne i skuteczne narzędzie w leczeniu ubytków skóry u zwierząt.



## ZASTOSOWANIE PREPARATU CALCIBONE W CHIRURGICZNYM LECZENIU CYSTY KOSTNEJ U PSA

### USE OF THE PRODUCT CALCIBONE IN SURGICAL TREATMENT OF BONE CYST IN THE DOG

Janusz Bieżyński, Anita Piątek, Natalia Kościółek

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii,  
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: nitkaxx@interia.pl

Cysta kostna jest to przestrzenna struktura wewnątrz jamy szpikowej, która stopniowo rośnie i osłabia kość aż do momentu, w którym nastąpi złamanie. Wyróżniamy pojedyncze, jednokomorowe cysty kostne, które mogą być spowodowane urazem, tworzeniem się skrzepów krwi, wzrostem ilości osteoklastów, utrudnionym przepływem krwi w obrębie naczyń żylnych kości oraz gromadzeniem się płynu w obrębie kości. Ponadto występują tętniakowate cysty kości, które najczęściej powstają na skutek uszkodzenia naczyń krwionośnych w obrębie kości, co prowadzi do tworzenia się nieprawidłowych połączeń pomiędzy naczyniami żylnymi a tętniczymi. Dzieje się tak na skutek wzrostu ilości krwi w obrębie jamy szpikowej, co powoduje erozję kości. Idealne leczenie cysty kostnej u psa nie zostało jeszcze określone. Opisany przypadek prezentuje leczenie chirurgiczne cysty kostnej okolicy przynasadowej dalszej prawej kości ramiennej u psa płci męskiej, rasy Mastiff Tybetański, w wieku 8 miesięcy.

**Materiał i metody:** Pacjentem był pies płci męskiej, rasy Mastiff Tybetański, w wieku 8 miesięcy, wadze 50 kg, który został przywieziony do kliniki z problemem kulawizny kończyny piersiowej prawej. Podczas badania klinicznego zaobserwowano kulawiznę odciążającą wspomnianą kończynę oraz bolesność w czasie omacywania okolicy dalszej nasady kości ramiennej.

Badania radiologiczne prawej kości ramiennej oraz kości przedramienia wykazały w okolicy nasady dalszej kości ramiennej destrukcyjną, rozległą, o małej gęstości zmianę zawierającą nieregularnej wielkości przegrody. Zmiana ta powodowała ścieńczenie korówki kości. Nie wykazano żadnej reakcji okostnej ani zmian w tkankach miękkich. Ponadto została wykonana biopsja kości z okolicy zmiany, a badanie histopatologiczne nie wykazało zmian o charakterze nowotworowym. Leczenie chirurgiczne polegało na wycięciu fragmentu korówki w kształcie kwadratu w okolicy zmiany, drenaż cysty z wypełniającego ją krwistego płynu, dokładne wyłuszczenie wnętrza cysty, a następnie wypełnienie jej materiałem CALCIBONE (Biomet Germany GmbH) w dwóch postaciach – granulek oraz pasty. Po zaaplikowaniu materiału otwór był zamykany wyciętym wcześniej fragmentem kości. Dalsze postępowanie polegało na zamknięciu rany według ogólnie znanych zasad chirurgicznych.

**Wyniki i omówienie:** Zastosowanie materiału CALCIBONE w połączeniu z drenażem oraz łyżeczkowaniem zmiany dało doskonały efekt: prowadząc do całkowitego zagojenia się zmiany bez powikłań w postaci złamań czy dalszego rozprzestrzeniania się zmiany. Ponadto zaletą stosowania cementu kostnego CALCIBONE jest jego zdolność do przyjmowania naprężeń mechanicznych, przez co zapobiega on występowaniu złamań. Badania kontrolne przeprowadzone po 14, 30, 60 dniach wykazały postępujący proces gojenia się zmiany. Całkowite wyleczenie wraz z ustąpieniem objawów kulawizny nastąpiło po 2 miesiącach od zabiegu.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Sarierler M., Cullu E., Yurekli Y., Birinciooglu S., 2004. Bone Cement Treatment for Aneurysmal Bone Cyst in a Dog. J. Vet. Med. Sci., 66 (9), 1137–1142.
- [2] Nomura K., Sato K., 1997. Pelvic Aneurysmal Bone Cyst in a Dog. J. Vet. Med. Sci., 59 (11), 1027–1030.
- [3] Papageorges M., Sande RD., Menard M., Stone DM., 1989. Osteosarcoma mimicking a bone cyst in a dog. Can. Vet. J., Volume 30.



## KLINICZNE, HORMONALNE I IMMUNOHISTOCHEMICZNE MONITOROWANIE EFEKTÓW FARMAKOTERAPII NOWOTWORÓW OKOLICY ODBYTU U PSÓW

### CLINICAL, HORMONAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL MONITORING OF PHARMACOLOGICAL TREATMENT IN DOGS WITH PERIANAL TUMORS

Adam Brodzki<sup>1</sup>, Wojciech Łopuszyński<sup>2</sup>, Piotr Brodzki<sup>3</sup>, Aleksandra Sobczyńska-Rak<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt; <sup>2</sup>Katedra Anatomii Patologicznej; <sup>3</sup>Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Guzy nowotworowe okolicy okołodbytywowej są zmianami hormonozależnymi i wywodzą się z gruczołów okołodbytowych. Są częste u starszych samców, natomiast u suk występują rzadko. Są bardzo uciążliwe dla psa ze względu na tendencje do owrzodzeń i krwawienia.

**Cel badań:** Określenie możliwości oceny aktywności proliferacyjnej przy zastosowaniu antygenu Ki-67 w różnicowaniu tkanki prawidłowej oraz nowotworów niezłośliwych i złośliwych. Badanie poziomu hormonów płciowych surowicy krwi pozwalało na zastosowanie leczenia farmakologicznego. Skuteczność podjętego leczenia monitorowano badaniem klinicznym i badaniem poziomu hormonów płciowych po 1 i po 6 miesiącach od rozpoczęcia leczenia.

**Materiał i metody:** Materiał do badań immunohistochemicznych stanowiły tkanki guza pobrane przyżyciowo metodą trokarobiopsji tkanki guza po uprzedniej premedykacji zwierzęcia i znieczuleniu miejscowym. Do oceny ekspresji antygenu Ki-67 użyto zestawu przeznaczonego do barwień immunohistochemicznych w tkankach zwierzęcych DAKO-ARCTM (Animal Research Kit, Dako). Do ilościowej oceny ekspresji antygenów proliferacyjnych wykorzystany został system komputerowo wspomaganą analizy obrazu mikroskopowego (system: mikroskop świetlny Nikon Eclipse E-600 sprzężony z kamerą cyfrową Nikon DS-Fi1 oraz komputerem z programem Lucia v. 5,0 Screen Measurment). Oznaczanie poziomu hormonów androgenowych oraz estrogenowych (testosteron, 17-beta-estradiol) w surowicy krwi psów zostało przeprowadzone metodą ELISA. Oznaczenia poziomu hormonów w surowicy krwi psów przeprowadzono przy użyciu spektrofotometrycznego czytnika mikropłytek Benchmark Plus, wyposażonego w oprogramowanie Microplate Manager Software V. 5.2.1 (Boi-Rad Laboratories Inc., Hercules, Kalifornia, USA).

**Wyniki i omówienie:** Badaniem objęto 45 psów samców, różnych ras w wieku 9–14 lat, u których stwierdzono obecność guza w okolicy odbytu. U większości, tj. 26 psów stwierdzono obecność łagodnego rozrostu nowotworowego (adenoma) – a u pozostałych 19 złośliwego. Wyniki badania na obecność antygenu Ki-67 potwierdziły, że tkanki nowotworów niezłośliwych okolicy odbytu wykazują o około 40% niższą aktywność proliferacyjną niż tkanki nowotworów złośliwych. Tkanki prawidłowa okolicy odbytu mają o 70% mniejszą aktywność proliferacyjną niż tkanki nowotworów złośliwych tej okolicy. Przeprowadzone badania wykazały przydatność antygenu Ki-67 do różnicowania nowotworów o wysokim stopniu złośliwości histologicznej od nowotworów okolicy odbytu o niskiej złośliwości histologicznej. Psy z nowotworami okolicy odbytu poddawano leczeniu farmakologicznemu lekami antyestrogenowymi lub antyandrogenowymi. W czasie terapii antyhormonalnej badano koncentracje estrogenów i androgenów (1 miesiąc i 6 miesięcy od początku leczenia). Stężenie hormonów i stan kliniczny zwierzęcia wskazywały na potrzebę kontynuacji leczenia bądź jego zakończenie.

Przeprowadzone badania potwierdziły dużą przydatność aktywności proliferacyjnej do prognozowania przebiegu choroby nowotworowej. Stężenie hormonów płciowych jest dobrym wskaźnikiem w monitorowaniu leczenia guzów okolicy odbytu u psów samców.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Martins A.M.C.R.P.F., Vasques-Peyser A., Torres L.N., Matera J.M., Dagli M.L. Z., Guerra J.L., 2008. Retrospective – systematic study and quantitative analysis of cellular proliferation and apoptosis in normal, hyperplastic and neoplastic perianal glands in dogs Veterinary and Comparative Oncology, 6, 2, 71–79.





## ZMIANY KONCENTRACJI WOLNYCH AMINOKWASÓW W SUROWICY KRWI PO 1 I 6 MIESIĄCACH U PSÓW Z ŁAGODNYMI NOWOTWORAMI OKOLICY ODBYTU

### ONE- AND SIX-MONTH CHANGES IN PLASMA CONCENTRATION OF FREE AMINO ACIDS IN DOGS SUFFERING FROM BENIGN PERIANAL TUMORS

Adam Brodzki<sup>1</sup>, Piotr Brodzki<sup>2</sup>, Maria Szpetnar<sup>3</sup>, Marcin Tatar<sup>4</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt, <sup>2</sup>Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, <sup>3</sup>Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, <sup>4</sup>Akademia Medyczna w Lublinie, Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Chemii Ogólnej, ul. St. Staszica 4, 20-081 Lublin

Wraz ze wzrostem nowotworu rośnie ilość metabolizowanych białek, co prowadzi do zmiany profilu wolnych aminokwasów w surowicy krwi chorych. Przypuszcza się, że różne guzy w odmienny sposób wpływają na profil wolnych aminokwasów. Guzy nowotworowe występujące w tej okolicy mają podłoże hormonalne, występują u psów płci męskiej. Stanowią one duży problem terapeutyczny, ponieważ występują u psów w starszym wieku z przeciwwskazaniem do znieczulenia. Nowotwory w tej okolicy często pojawiają się w bezpośrednim sąsiedztwie zwieraczy odbytu, co również nie sprzyja interwencji chirurgicznej. Podjęto leczenie farmakologiczne.

**Cel badań:** Sprawdzenie skuteczności leczenia farmakologicznego nowotworów niezłośliwych okolicy odbytu u psów oraz ocena zmian w profilu aminokwasów w surowicy krwi po 1 i 6 miesiącach od rozpoczęcia leczenia.

**Materiał i metody:** Psy do badanej grupy klasyfikowano na podstawie rozpoznania histopatologicznego. Leczenie antyhormonalne podejmowano po uprzednim zbadaniu poziomu hormonów w surowicy krwi. Oznaczanie poziomu hormonów androgenowych oraz estrogenowych (testosteron, 17-beta-estradiol) w surowicy krwi psów zostało przeprowadzone metodą ELISA. Oznaczenia poziomu hormonów w surowicy krwi psów przeprowadzono przy użyciu spektrofotometrycznego czytnika mikroplitek Benchmark Plus, wyposażonego w oprogramowanie Microplate Manager Software V. 5.2.1 (Boi-Rad Laboratories Inc., Hercules, Kalifornia, USA). Badanie poziomu aminokwasów w surowicy wykonano przy użyciu aparatu do automatycznej analizy aminokwasów AAA-400 produkcji czeskiej, gdzie do oznaczania stężenia wolnych aminokwasów zastosowano metodę chromatografii jonowymiennej

**Wyniki i omówienie:** Leczenie farmakologiczne niezłośliwych nowotworów okolicy odbytu u psów dały zadowalające rezultaty. U wszystkich psów uzyskano wyleczenie, a przez okres obserwacji do szóstego miesiąca od rozpoczęcia leczenia nie było wznowy procesu nowotworowego. Przeprowadzono badanie poziomu wolnych aminokwasów przed leczeniem oraz w 1 i 6 miesięcy po rozpoczęciu leczenia. Statystycznie istotne różnice pomiędzy wszystkimi grupami psów stwierdzono dla isoleucyny i leucyny. Stężenie tych aminokwasów wzrastało w grupie psów po 1 miesiącu od rozpoczęcia leczenia, natomiast po 6 miesiącach od początku leczenia ich koncentracja w surowicy obniżała się. Istotnie statystycznie wzrastała koncentracja glicyny, alaniny, fenyloalaniny i tryptofanu w grupie po 6 miesiącach od rozpoczęcia leczenia w porównaniu z ich stężeniem w grupie przed leczeniem oraz w grupie po 1 miesiącu od rozpoczęcia leczenia. Obniżenie stężenia waliny, metioniny, tyrozyny i histydyny zanotowano w grupie psów po 6 miesiącach od początku leczenia w porównaniu z ich koncentracją u psów z przed leczenia i psów po 1 miesiącu od początku leczenia. Istotny statystycznie wzrost koncentracji w grupie psów po 1 miesiącu od początku leczenia w porównaniu z dwoma pozostałymi grupami psów stwierdzono dla aminokwasu treonina, a obniżenie koncentracji w tej grupie psów w porównaniu z pozostałymi wykazano dla fenyloalaniny.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Van Eijk H.M.H., Rooyackers D.N., Van Acker B.A.C., Soeters P.B., Deutz N.E.P., 1999. Automated isolation of high-purity plasma albumin for isotope ratio measurements. *J. Chromatography B*, 731, 199–205.
- [2] Boucher J., Charret Ch., Coudray-Lucas C., Giboudeau J., Cynober L., 1997. Amino acid determination in biological fluids by automated ion-exchange chromatography. *Clin. Chem.* 43,1421–1428.



## EKSPERSJA TOPOIZOMERAZY-II $\alpha$ W NOWOTWORACH GRUCZOŁU SUTKOWEGO U KOTÓW

### TOPOISOMERASE-II $\alpha$ EXPRESSION IN FELINE MAMMARY TUMOURS

Adam Brzana<sup>1</sup>, Wojciech Łopuszyński<sup>2</sup>, Paweł Klimiuk<sup>2</sup>, Marek Szczubiał<sup>3</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Zakład Higieny Weterynaryjnej w Opolu, ul. Wrocławska 170, 45-836 Opole,

<sup>2</sup>Katedra Anatomii Patologicznej, <sup>3</sup>Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin; e-mail a.brzana@wiv.opole.pl,

Leczenie celowe jest najbardziej efektywnym sposobem chemioterapii nowotworów. W ostatnich latach podejmowane są liczne próby wyłonienia czynników predykcyjnych dla chemioterapeutyków stosowanych w leczeniu nowotworów u zwierząt. W terapii nowotworów gruczołu sutkowego kotek stosowano m.in. chemioterapeutyki z grupy antracyklin [1, 3]. Leki te są swoistymi inhibitorami topoizomerazy II będącej kluczowym enzymem uczestniczącym w procesie replikacji DNA. Uzyskanie pozytywnej odpowiedzi na leczenie przy użyciu wymienionych chemioterapeutyków wymaga oznaczenia markerów umożliwiających właściwy dobór chorych zwierząt do leczenia.

**Cel pracy:** Immunohistachemiczna ocena ekspresji topoizomerazy II- $\alpha$  (TOP-2A) w nowotworach gruczołu sutkowego kotek jako potencjalnego wskaźnika predykcyjnego do leczenia jej inhibitorami.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 20 usuniętych chirurgicznie i utrwalonych w formalinie złośliwych nowotworów gruczołu sutkowego kotek. Wykonane metodą parafinową preparaty mikroskopowe zabarwiono hematoksyliną i eozyną i oceniono wg klasyfikacji AFIP/WHO [2]. Ekspresję TOP-2A oznaczono metodą immunohistochemiczną z zastosowaniem zestawu LSAB<sup>+</sup> (Dako) przy użyciu monoklonalnego mysiego przeciwciała (klon Ki-S1, Dako) rozcieńczonego 1:100. Jądrową ekspresję TOP-2A oszacowano przy użyciu komputerowo wspomaganego systemu analizy obrazu, klasyfikując guzy w zależności od odsetka wybarwionych jąder komórkowych. Guzy, w których wybarwiło się mniej niż 5% jąder komórek nowotworowych, uznawano za ujemne, 6-30% jąder za słabo dodatnie, 31-60% za średnio dodatnie i powyżej 60% jako silnie dodatnie.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie badania histopatologicznego rozpoznano: 8 raków cewkowo-brodawowatych, 5 raków litych i 8 raków sitowatych. Dodatni odczyn na obecność TOP-2A wystąpił w jądrach komórek nowotworowych, przy czym największe natężenie odczynu obserwowano w obwodowej strefie wzrostu guzów i ogniskach naciekania. W 5 przypadkach ekspresja TOP-2A nie przekraczała 5% komórek, 7 guzów uznano za słabo dodatnie, a 4 za średnio dodatnie. Jedynie w 4 przypadkach wybarwiło się powyżej 60% jąder komórek nowotworowych. Trzy guzy z tej grupy miały utkanie raka sitowatego.

Uzyskane wyniki wskazują, że nowotwory złośliwe gruczołu sutkowego kotek charakteryzuje niska lub średnia ekspresja TOP-2A, co wyjaśnia niewielką efektywność chemioterapii z użyciem jej inhibitorów [1]. Jednocześnie fakt, że 20% guzów uznano za silnie dodatnie, wskazuje na potencjalną możliwość zastosowania inhibitorów TOP-2A w tych przypadkach, a immunohisto-chemiczna ocena ekspresji TOP-2A może służyć jako wskaźnik predykcyjny w doborze pacjentów do leczenia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] McNeill C.J., Sorenmo K.U., Shofer F.S., Gibeon L., Durham A.C., Barber L.G., Baez J.L., Overley B., 2009. Evaluation of adjuvant doxorubicin-based chemotherapy for the treatment of feline mammary carcinoma. *J. Vet. Intern. Med.* 23, 123-9.
- [2] Misdorp W., Else R.W., Hellen E., Lipscomb T.P., 1999. Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and the Cat. WHO International Histological Classification of Tumors of Domestic Animals, wyd. 2, Vol. VII, AFIP Washington D.C.
- [3] Novosad C.A., Bergman P.J., O'Brien M.G., McKnight J.A., Charney S.C., Selting K.A., Graham J.C., Correa S.S., Rosenberg M.P., Gieger T.L., 2006. Retrospective evaluation of adjunctive doxorubicin for the treatment of feline mammary gland adenocarcinoma: 67 cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 42, 110-20.



## MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA HEMODIALIZY U ZWIERZĄT TOWARZYSZĄCYCH

### POSSIBILITIES OF HEMODIALYSIS APPLICATION IN COMPANION ANIMALS

Jolanta Bujok<sup>1,2</sup>, Karolina Grzeszczuk-Kuś<sup>2</sup>, Agnieszka Rusiecka<sup>1,2</sup>, Albert Czerski<sup>1,2</sup>,  
Marek Suder<sup>2</sup>, Małgorzata Komorowska<sup>2</sup>, Wojciech Zawadzki<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Zakład Fizjologii Zwierząt

<sup>2</sup>WroVasc Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo-Naczyniowej, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu

Hemodializa (HD) jest procedurą polegającą na pozaustrojowym oczyszczeniu krwi z cząstek o niskiej masie cząsteczkowej. U ludzi jest standardowym postępowaniem leczniczym, u zwierząt metoda nie jest szeroko rozpowszechniona. Celem wdrożenia HD u zwierząt jest przede wszystkim poprawa przeżywalności zwierząt cierpiących na ostrą niewydolność nerek (ARF), niektóre zatrucia oraz silnie przewodnienie.

**Materiał i metody:** Punkt dializ wyposażono w urządzenie dializacyjne Fresenius Medical Care 4800 B otrzymujące wodę z systemu uzdatniania wody. Do sztucznej nerki podłączane są: koncentrat wodorowęglanowego płynu dializacyjnego, dializator polisulfonowy (Fresenius F3-F5) oraz pediatryczne lub neonatologiczne linie krwi (AV-Set FMC). Dodatkowe wyposażenie stanowią system kontroli parametrów życiowych i analizatory parametrów krwi oraz waga. Dostęp naczyniowy u pacjenta uzyskuje się, zakładając czasowy dwudrożny kateter (6,5–11 Fr) do żyły szyjnej zewnętrznej metodą Seldingera. Parametry dializy (szybkość przepływu krwi, wielkość ultrafiltracji, czas dializy, stężenie sodu i dwuwęglanu, dawka heparyny) ustalane są indywidualnie, w zależności od przyczyny konsultacji i stanu pacjenta. Miarą efektywności HD jest stopień redukcji mocznika (URR) lub stężenie toksyny we krwi pacjenta.

**Wyniki i omówienie:** Pierwszą dializę u psa wykonano w lutym 2012 r. u pacjenta (suka, 6 lat, 28,9 kg) z ARF niereagującego na leczenie. Poziom mocznika w surowicy krwi wynosił 480 mg/dl, kreatyniny 22 mg/dl. Hematokryt wynosił 0,36, manifestowały się przewodnienie i wymioty. Przeprowadzono 3 HD co 24 h (I HD: 2 h URR = 0,29; II HD 3 h, URR = 0,51; III HD 4,5 h, URR = 0,74), podczas których modelowano stężenie sodu oraz parametry ultrafiltracji zależnie od wielkości ciśnienia przezłonowego (TMP), pacjent pozostał stabilny. Po trzeciej HD poziom kreatyniny w surowicy krwi wynosił 6,7 mg/dl, mocznika 117 mg/dl, hematokryt 0,3, waga pacjenta 26,4 kg, powrócił apetyt. Dalsze leczenie nie było możliwe z przyczyn innych niż medyczne.

HD jest zaawansowaną metodą pozwalającą na utrzymanie przy życiu pacjentów z ciężką ARF do czasu powrotu funkcji nerek lub przejścia choroby w stan przewlekły. W weterynarii jej zastosowanie jest ograniczone przez wysokie wymagania sprzętowe oraz koszty, dodatkowo jest to procedura czasochłonna i obciążona dużym ryzykiem powikłań, z których najpoważniejsze to wstrząs hipowolemiczny i zespół niewyrównania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Elliott D. A., 2000. Hemodialysis, *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 15:3, 136–148.
- [2] Poeppel K., Langston C.E., Chalhoub S., 2011. Equipment Commonly Used in Veterinary Renal Replacement Therapy, *Vet. Clin. Small Anim.*, 41, 177–191.



## ANALIZA PRZYPADKÓW HYPERADRENOKORTYCYZMU DIAGNOZOWANEGO U PACJENTÓW DERMATOLOGICZNYCH KLINIKI KONI, PSÓW I KOTÓW KATEDRY CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH UNIwersYTETU PRZYRODNICZEGO WE WROCŁAWIU W LATACH 2008–2011

### ANALYSIS OF HYPERADRENOCORTICISM CASES DIAGNOSED IN DERMATOLOGIC PATIENTS IN CLINIC OF DISEASES OF HORSES, DOGS AND CATS IN WROCŁAW UNIVERSITY OF ENVIRONMENTAL AND LIFE SCIENCES IN YEARS 2008–2011

Agnieszka Cekiera, Jarosław Popiel, Józef Nicpoń

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: acekiera@o2.pl*

Nadczynność kory nadnerczy jest jednym z częstych zaburzeń endokrynologicznych u psów. Choroba opisywana jest jako tzw. dermatoza endokrynogenna, ponieważ w większości przypadków przebiega z objawami skórnymi. Hyperadrenokortycyzm tworzą zaburzenia metabolizmu spowodowane długotrwałym podwyższonym poziomem kortyzolu we krwi. Zaburzenia mogą być spowodowane nieprawidłowościami (hipertrofia lub adenoma) w obrębie przysadki – hyperadrenokortycyzm przysadkowo-zależny (ADH) lub w obrębie nadnerczy – hyperadrenokortycyzm zależny od nadnerczy powodowany przez wydzielniczo czynny autonomiczny guz. Objawy dermatologiczne to przede wszystkim obustronne symetryczne wyłysienia tułowia przebiegające bez świądu, tzw. szcurzy ogon, ścieńczenie skóry i powstawanie zaskórników oraz zwapnień. Z objawów ogólnych najczęściej opisuje się poliurię, polidypsję, osłabienie, powiększenie obrysu brzucha.

**Cel pracy:** Analiza przypadków hyperadrenokortycyzmu diagnozowanego u pacjentów dermatologicznych Klinik Koni Psów i Kotów Katedry Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

**Materiał i metody:** Do badania zakwalifikowano 30 psów różnej rasy płci i wieku. U badanych zwierząt zdiagnozowano hyperadrenokortycyzm poprzez przeprowadzenie testu stymulacji ACTH. U wszystkich badanych psów wykonano ogólne badanie kliniczne oraz badanie dermatologiczne, badanie morfologiczne oraz biochemiczne krwi. Uzyskane dane opracowane zostały statystycznie.

**Wyniki i omówienie:** W badanej grupie psów dominowały objawy ogólne oraz u połowy zwierząt wystąpiły zmiany skórne. U 90% badanych zwierząt wystąpiła poliuria i polidypsja. Dodatkowo częstym objawem było powiększenie jamy brzusznej oraz wykazane w badaniu ultrasonograficznym powiększenie wątroby. Wśród objawów dermatologicznych dominowało ścieńczenie skóry, zwapnienia oraz zaskórники. W badaniach morfologicznych zakwalifikowanych do projektu psów nie wykazano istotnych statystycznie różnic w odniesieniu do wartości referencyjnych. Jednakże zaobserwowano obraz tzw. leukogramu stresowego (limfopenia z granulocytozą). W badaniu biochemicznym zauważono istotnie statystyczną różnicę w aktywności aminotransferazy alaninowej oraz fosfatazy zasadowej z  $p < 0,001$ . U wszystkich badanych zwierząt poziom kortyzolu po stymulacji ACTH wynosił powyżej 500 nmol/l (średnio 1090 nmol/l).



## PRÓBA ZASTOSOWANIA WYBRANYCH INHIBITORÓW CYSTEINOWYCH W MIEJSCOWEJ TERAPII ATOPOWEGO ZAPALENIA SKÓRY U PSÓW

### TRIAL USE OF SELECTED CYSTEINE INHIBITORS IN TOPICAL ATOPIC DERMATITIS THERAPY IN DOGS

Agnieszka Cekiera, Jarosław Popiel, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: acekiera@o2.pl

Jednym z naturalnych inhibitorów proteinaz cysteinowych jest cystatyna, która występuje między innymi w białku jaja kurzego. Należy ona do typu 2 rodziny cystatyn, jest białkiem składającym się z 116 aminokwasów. Właściwości inhibicyjne zawdzięcza obecności trzech konserwatywnych domen. W jaju cystatyna występuje w stężeniu 80 ug/ml i jest białkiem wysoce stabilnym. Ponieważ proteinazy cysteinowe są czynnikiem zjadliwości bakterii, wykorzystywany jest wpływ hamujący cystatyny wobec m.in. ficyny, papainy, chymopapainy czy katepsynom. Ważną funkcją cystatyny jest wewnątrz- i zewnątrzkomórkowa kontrola rozkładu białek. Właściwości tego białka umożliwiają wykorzystanie go jako preparatu bakteriobójczego nowej generacji pochodzenia naturalnego.

**Cel pracy:** Zastosowanie cystatyny z białka jaja kurzego w miejscowej terapii atopowego zapalenia skóry u psów w celu zmniejszenia nasilenia zmian skórnych ocenianych według skali CADESI.

**Materiał i metody:** Do badania zakwalifikowano 16 psów różnych ras, płci i wieku. U wszystkich zwierząt zdiagnozowano atopię (testy śródskórne i przesiewowe testy z krwi metodą receptora Fcε). Psy stanowiły grupę zwierząt z atopowym zapaleniem skóry bez powikłań bakteryjnych. Przez 2 tygodnie w przestrzeniach międzypalcowych kończyny barkowej prawej stosowano miejscowo 50 ug/ml roztwór cystatyny w 10% roztworze glicerolu z PBS. W przestrzeniach międzypalcowych kończyny barkowej lewej wykonano próbę ślełą i stosowano 10% roztwór glicerolu z PBS. Przed i po zastosowaniu cystatyny wykonano ocenę nasilenia zmian skórnych według skali CADESI, a następnie wyniki poddano analizie statystycznej testem T studenta dla prób zależnych.

**Wyniki i omówienie:** U badanych psów z atopowym zapaleniem skóry bez powikłań bakteryjnych po 2 tygodniach stosowania cystatyny w stężeniu 50 ug/ml w 10% roztworze glicerolu z PBS zaobserwowano istotne statystycznie zmniejszenie nasilenia zmian skórnych z  $p < 0,05$  dla całej powierzchni skóry. Dla kończyny prawej, gdzie stosowana była cystatyna, wykazano istotne statystycznie zmniejszenie nasilenia zmian skórnych z  $p < 0,005$ . Na kończynie lewej, gdzie wykonano próbę ślełą, nie zaobserwowano zmian po terapii cystatyną. Wskazuje to na fakt, iż cystatyna z białka jaja kurzego stosowana miejscowo zmniejsza nasilenie zmian skórnych u psów z atopowym zapaleniem skóry. Jednocześnie w przypadku zastosowania próby ślepej nie uzyskano pozytywnego efektu terapeutycznego.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Więsierska E., 2006. Czynniki jakości mikrobiologicznej jaj kurzych. *Medycyna Wet.* 62:11, 1222–1228.
- [2] Machleidt W., Nagler D. K., Machleidt I. A., Stubbs M. T., Fritz H., Auerswald E. A., 1995. Temporary inhibition of papain by hairpin loop mutants of Chicken Cystatin. Distorted binding of the loops results in cleavage of the Gly-Ala bond. *FEBS Letters*, 361, 185–190.
- [3] Gołąb K., Warwas M., 2005. Białka jaja kurzego – właściwości biochemiczne i zastosowania. *Adv Clin. Exp. Med.* 14, 5, 1001–1010.
- [4] Germain P.A., Prelaud P., Bensignor E., 2005. CADESI reproducibility. *Revue Med. Vet.* 156:7, 382–385.





## WPŁYW DOUSTNEGO STOSOWANIA ANTYBIOTYKÓW Z GRUPY CHINOLONÓW NA KRZYWĄ EKG U PSÓW. BADANIA WSTĘPNE

### EFFECT OF ORAL ADMINISTRATION OF QUINOLONES ANTIBIOTICS ON ECG IN DOGS. PRELIMINARY STUDIES

Alicja Cepiel<sup>1</sup>, Agnieszka Noszczyk-Nowak<sup>1</sup>, Urszula Paśławska<sup>1</sup>, Jarosław Popiel<sup>1</sup>,  
Maciej Staszczuk<sup>1</sup>, Agnieszka Cekiera<sup>1</sup>, Adrian Janiszewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów

<sup>2</sup>Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy, email: calicja@op.pl

Antybiotyki z grupy chinolonów są powszechnie stosowane w medycynie ludzkiej oraz weterynaryjnej [1, 2]. Przeprowadzono wiele badań dowodzących, że u ludzi chinolony wpływają na wydłużenie QTc na krzywej EKG [1–4]. Mechanizmem prowadzącym do tego zjawiska jest blokowanie przez nie kanałów potasowych  $-I_{Kr}$  (kanał dla szybkiego prądu potasowego) [1]. Znaczne wydłużenie QTc może prowadzić do arytmii, takich jak torsades de pointes [1, 2, 3, 5, 6]. Celem przeprowadzanych badań jest analiza wpływu chinolonów na krzywą EKG u psów.

**Materiał i metody:** Materiał stanowią psy leczone antybiotykami z grupy chinolonów (enrofloksacyna, ciprofloksacyna lub marbofloksacyna) w Katedrze Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów. Otrzymują one antybiotyk doustnie, w dawkach: enrofloksacyna 10 mg/kg, ciprofloksacyna 10 mg/kg przez okres co najmniej 3 tygodni. Przed rozpoczęciem terapii antybiotykowej wykonywane jest badanie spoczynkowe EKG oraz podstawowe badanie echokardiograficzne, aby wykluczyć istniejące choroby serca. Po 3 tygodniach terapii ponownie było wykonywane spoczynkowe badanie EKG. U zwierząt leczonych przewlekłe, dłużej niż 3 tygodnie, po kolejnych tygodniach leczenia badanie EKG jest powtarzane. Na otrzymanych krzywych EKG oznaczane są: częstość akcji serca, odstęp RR, szerokość załamka P oraz zespołu QRS, PQ, QT, QTc oraz oś QRS.

**Wyniki i omówienie:** Wyniki badań wstępnych na grupie 8 psów wykazały wydłużenie QTc średnio o 17,25 ms w wszystkich osobnikach w kolejnych badaniach. Pomimo małej liczby osobników przebadanych wykazują, że chinolony u psów powodują wydłużenie odstępu QT, jednak wymagane jest przeprowadzenie obserwacji na większej grupie psów. O potencjalnych właściwościach proarytmicznych powinno się pamiętać i mieć je na uwadze, decydując się na terapię chinolonami. W przypadku współistniejących czynników, np.: niedoczynności tarczycy, bradykardii, zaburzeń jonowych, niewydolność serca, wątroby lub nerek, podawanie leków z tej grupy u psów, podobnie jak u ludzi, istotnie zwiększa prawdopodobieństwo pojawienia się arytmii groźnych dla życia, jakimi są torsades de pointes [7].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Falagas M.E., Rifailidis P.I., Rosmarakis E.S., 2007. Arrhythmias associated with fluoroquinolone therapy, *International Journal of Antimicrobial Agents* 29, 374–9.
- [2] Liu H.H., Safety profile of the fluoroquinolones: focus on levofloxacin, *Drug Saf.* 2010 May 1:33(5), 353–69.
- [3] Briasoulis A., Agarwal V., Pierce W.J., 2011. QT prolongation and torsade de pointes induced by fluoroquinolones: infrequent side effects from commonly used medications *Cardiology*. 120 (2), 103–10.
- [4] Makaryus A.N. et al. Effect of ciprofloxacin and levofloxacin on the QT interval: is this a significant „clinical” event? *South Med. J.* 2006 Jan, 99 (1):52–6.
- [5] Seop Kim D., Kim K.S., Hwan Choi K., Na H., Kim J.I., Shin W.H., Kim E.J., 2006. Electrophysiological safety of novel fluoroquinolone antibiotic agents gemifloxacin and balofloxacin, *Drug Chem Toxicol.*, 29 (3), 303–12.
- [6] Tsikouris J.P., Peeters M.J., Cox C.D., Meyerrose G.E., Seifert C.F., 2006. Effects of Three Fluoroquinolones on QT Analysis After Standard Treatment Courses, *A.N.E.* 11 (1), 52–56.
- [7] Owens R.C.Jr., Nolin T.D., 2006. Antimicrobial-Associated QT Interval Prolongation: Pointes of Interest, *Clinical Infectious Diseases*, 43, 1603–11.



## EKSPRESJA INHIBINY $\alpha$ W GUZACH WYWODZĄCYCH SIĘ Z KOMÓREK LEYDIGA W JĄDRACH – BADANIE PORÓWNAWCZE U PSÓW I MĘŻCZYŹN

### EXPRESSION OF INHIBIN $\alpha$ IN TUMORS DERIVED FROM LEYDIG CELLS IN THE TESTES – COMPARATIVE STUDY IN DOGS AND MEN

Rafał Ciaputa<sup>1</sup>, Małgorzata Kandefer-Gola<sup>1</sup>, Marcin Nowak<sup>1</sup>, Janusz Antoni Madej<sup>1</sup>, Stanisław Dzimira<sup>1</sup>, Elżbieta Górzyńska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii, Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, ul. C.K. Norwida 31, 50-366 Wrocław

<sup>2</sup>Pracownia Histopatologiczna HistMed N.Z. s.c. M. Kosiński P. Prajs, ul. Kamieńskiego 73a, Wrocław, e-mail: rafal.ciaputa@up.wroc.pl

Jedną z częściej występujących grup nowotworów u psów samców są guzy jąder. Już w 1974 r. Światowa Organizacja Zdrowia korzystając z badań Nielsena i wsp. [1] przedstawiła klasyfikację tych zmian, a następnie uznała, że najczęściej występujące nowotwory jąder to *Seminoma*, *Leydigoma* oraz *Sertolioma*, co zostało potwierdzone licznymi, późniejszymi odkryciami.

**Cel pracy:** Wykazanie ekspresji inhibiny  $\alpha$  w guzach nowotworowych jąder u psów wcześniej zdiagnozowanych jako *Leydigoma*. Ponadto porównanie ekspresji tego markera w nowotworach jąder u psów i mężczyzn.

**Materiał i metody:** Pobrane wycinki zmienionych nowotworowo jąder utrwalano przez 24 godziny w 7% buforowanej formalinie, a następnie przeprowadzono do bloczków parafinowych i krojono na skrawki grubości 4  $\mu$ m. Do oceny histopatologicznej zabarwionych hematoksyliną i eozyną preparatów mikroskopowych zastosowano klasyfikację guzów jąder u psów według WHO.

Badania immunohistochemiczne wykonywano z wykorzystaniem przeciwciała Monoclonal Mouse Anti-Human Inhibina  $\alpha$  Clone R1 firmy DAKO®. Przypadki zmian nowotworowych jąder u mężczyzn pochodzą z Pracowni Histopatologicznej HistMed N.Z. s.c. M. Kosiński P. Prajs, ul. Kamieńskiego 73a, Wrocław, natomiast guzy jąder psów pochodzą z Katedry Patologii UP we Wrocławiu.

**Wyniki i omówienie:** *Leydigoma* jest nowotworem wywodzącym się z niekontrolowanego rozplemu komórek śródmiąższowych Leydiga. W obrazie histopatologicznym obserwujemy duże, owalne, wielokątne komórki wypełnione obficie cytoplazmą z licznymi wakuolami. Komórki te mają średniej wielkości hiperchromatyczne jądra, a figury podziału mitotycznego są nieliczne. W przypadku oznaczenia inhibiny  $\alpha$  w guzie z komórek Leydiga u psów udało się uzyskać silną reakcję cytoplazmatyczną w zmienionych nowotworowo komórkach podporowych Leydiga. Podobny odczyn uzyskano w materiale z tego samego rodzaju nowotworów pochodzących od mężczyzn. Ekspresja inhibiny  $\alpha$  koreluje z potencjałem wzrostowym nowotworów, gdyż według najnowszych doniesień może spełniać rolę inhibitora wzrostu guza [2]. Ułatwia ona również diagnostykę histopatologiczną guzów jąder szczególnie w przypadkach mało zaawansowanego rozrostu typu *Leydigoma*. Wykazanie podobnej ekspresji badanego markera w guzach jąder u psów i mężczyzn uzasadnia możliwość wykorzystania tego typu nowotworów jako modeli doświadczalnych w badaniu skomplikowanych mechanizmów rządzących procesami kancerogenezy w jądrach u człowieka.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Nielsen S.W., Lein D.H., 1974. Tumours of the testis: Bull. Wld. Hlth. Org., 50, 71–78.
- [2] Zheng W., Lauchlan S.C., 1999. Inhibin and activin: their roles in ovarian tumorigenesis and their diagnostic utility in surgical pathology practice: Applied Immuno. & Mol. Morph., 7 (1), 29–38.



## RAK ANAPLASTYCZNY GRUCZOŁU SUTKOWEGO PSA – CHARAKTERYSTYKA HISTOPATOLOGICZNA ORAZ IMMUNOHISTOCHEMICZNA PRZYPADKU

### ANAPLASTIC CANINE MAMMARY CARCINOMA – HISTOPATHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CASE STUDY

Izabella Dolka, Rafał Sapierzyński

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa, e-mail: izabella\_dolka@sggw.pl

W piśmiennictwie weterynaryjnym istnieje szereg publikacji na temat nowotworów gruczołu sutkowego suk, jednak rak anaplastyczny jest rzadkim przypadkiem zarówno w praktyce klinicysty, jak i patologa. Wśród nowotworów złośliwych gruczołu sutkowego stanowi 4%.

**Cel pracy:** Charakterystyka raka anaplastycznego gruczołu sutkowego psa z zastosowaniem badania histopatologicznego i immunohistochemicznego (IHC).

**Materiał i metody:** Przypadek dotyczył psa, w wieku 7 lat, samicy (niesterylizowanej), rasy doberman. Z wywiadu ustalono, że suka miała 1 miot, zapalenie gruczołu sutkowego, które ustąpiło po leczeniu. Jednak w krótkim czasie pojawiły się dwie drobne, twarde zmiany w L4-5, P4-5 z nadmiarem wydzieliny mlecznej. Stosowano leczenie (Galastop, okłady). Po ok. 10 mies. rozwinął się guz w L5 o wymiarach 10 cm x 5cm. Wykonano zabieg mastektomii, pojawiły się problemy z gojeniem rany, z której utrzymywał się wypływ początkowo ropny, następnie surowiczko-krwisty, o różnym stopniu nasilenia. Pomimo leczenia stan psa uległ pogorszeniu, wystąpiły objawy duszności, zastrzony szmer pęcherzykowy. Właścicielka podjęła decyzję o eutanazji. Wycinek guza został utrwalony w 10% formalinie. Uzyskane skrawki parafinowe barwiono hematoksyliną-eozyną (H-E). Ocenę przeprowadzono na podstawie klasyfikacji z 1999 i 2011 [1, 2]. Za pomocą IHC określono ekspresję markerów diagnostycznych (CK, Vim, αSMA, Des, p63) i prognostycznych: Ki67, PR, ERα i E-kadheryny. Średni % komórek dodatnich dla Ki67, PR, ERα, E-kadheryny określono w 10 polach widzenia przy powiększeniu 400x.

**Wyniki i omówienie:** Badaniem histopatologicznym wykazano raka anaplastycznego, charakteryzującego się obecnością niskozróżnicowanych komórek o różnym kształcie, wielkości (często duże), z hiperchromatycznym owalnym jądrem (lub dwujądrazte), niekiedy ułożonym mimośrodkowo, z wyraźnym jąderkiem; o kwasochłonnej cytoplazmie, w niektórych obserwowano wakuole i nieprawidłowe figury mitotyczne. Komórki nowotworowe (pojedynczo lub w niewielkich skupiskach) naciekały obfite podścielisko. Wykazano obecność zatorów nowotworowych oraz komórki przypominające komórki śródbłonna (ELCs-endothelial-like cells) zawierające neutrofile. Badaniem IHC wykazano ekspresję CK w komórkach nowotworowych oraz ELCs, co potwierdziło ich nabłonkowe pochodzenie, a z drugiej strony, ogniskowa koekspresja CK i Vim wskazała na bardziej agresywny fenotyp i niskie zróżnicowanie nowotworu [3]. Obecność Vim i αSMA stwierdzono w mezenchymalnych komponentach podścieliska. Komórki nowotworowe nie wykazały ekspresji Des, p63 oraz ERα. Indeks proliferacyjny wynosił 35,7%. Obecność PR stwierdzono w 22,1% komórkach. Wykazano utratę ekspresji E-kadheryny.

Rak anaplastyczny należy on do najbardziej złośliwych nowotworów gruczołu sutkowego psów. Dodatkowo obecność ELCs związana jest z wysokim ryzykiem powstawania przerzutów drogą naczyń limfatycznych. W związku z towarzyszącym stanem zapalnym posiada on cechy raka zapalnego (IMC-inflammatory mammary carcinoma), dlatego w diagnostyce różnicowej należy uwzględnić *mastitis*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Misdorp W. et al., 1999. Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and the Cat. AFIP, ARP and WHO, Washington, USA, vol. 7, 11–29.
- [2] Goldschmidt M. et al., 2011. Classification and grading of canine mammary tumors. Vet. Pathol., 48, 117–131.
- [3] Clemente M. et al., 2010. Histological, immunohistological, and ultrastructural description of vasculogenic mimicry in canine mammary cancer. Vet. Pathol., 47, 265–274.



## PRZYDATNOŚĆ SYNTETYCZNYCH FEROMONÓW SUK DO STYMULACJI ODRUCHÓW PŁCIOWYCH U PSÓW REPRODUKTORÓW

### THE USEFULNESS OF A BITCH'S SYNTHETIC SEX PHEROMONE FOR STIMULATION OF THE REPRODUCTIVE REFLEXES IN DOGS

Michał Dzieciół, Ewa Stańczyk, Wojciech Nizański, Jan Twardoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, 50-366 Wrocław, pl. Grunwaldzki 49, Polska, e-mail: [michal.dzieciol@up.wroc.pl](mailto:michal.dzieciol@up.wroc.pl)

Feromony są to substancje wydzielane i odbierane przez osobniki tego samego gatunku powodujące specyficzną reakcję behawioralną oraz wywołujące modyfikację fizjologiczną. Feromony płciowe są typowym przykładem feromonów sygnalizujących, mają one bowiem zdolność natychmiastowego oddziaływania i zmieniania fizjologii oraz zachowania odbiorcy sygnału. Oprócz bodźców wizualnych wydzielanie przez samicę specyficznych sygnałów chemicznych (feromonów płciowych) wydaje się być niezwykle istotne, a w niektórych wypadkach wręcz konieczne do wystąpienia pobudzenia płciowego u samca.

**Cel pracy:** Zbadanie przydatności syntetycznych feromonów suk do stymulacji odruchów płciowych psów.

**Materiał i metody:** Badano 6 dorosłych samców (w wieku 3–6 lat) oraz 10 suk (2,5–4,5 lat). Analizowano występowanie lub brak typowych zachowań płciowych po prezentacji naturalnych oraz syntetycznych feromonów. Badanie odruchów oparto na analizie czasu kontaktu samca z suką oraz występowaniu lub braku takich zachowań jak wążanie i lizanie sromu, chwilowe znieruchomienie, podążanie za suką oraz obskakiwanie suki [3]. W I części badań psom prezentowano 6 suk w cieczce, 6 suk w anoestrus, którym zaaplikowano syntetyczne feromony (Eau D'Estrus®, Synbiotics Co. Kansas City, Missouri, USA) oraz 6 suk w anoestrus, którym zaaplikowano naturalne feromony pozyskane od suk w cieczce. W II części eksperymentu psom prezentowano wymazówki sterylne oraz zawierające naturalne feromony płciowe suk lub substancje zawarte w Eau D'Estrus®. W tej części badań oprócz obserwacji zachowania samców analizowano zmiany przepływów w naczyniach prącia. Badanie wykonywano techniką kolor dopler za pomocą aparatu MyLab25 Gold (Esaote, Włochy) wyposażonego w liniową głowicę 12 MHz [1]. W III części eksperymentu oceniano czas kontaktu psów z sukami w cieczce, z sukami w anoestrus oraz z sukami w anoestrus, którym podano syntetyczne feromony.

**Wyniki i omówienie:** Wykazano statystycznie istotną różnicę pomiędzy zainteresowaniem psów powodowanym przez naturalne i sztuczne feromony. Eau D'Estrus® nie spowodował zmian w przepływach w naczyniach prącia, natomiast średni czas poświęcony na obwąchiwanie suki nie różnił się w przypadku suki w anoestrus i suki w anoestrus z zaaplikowanym sztucznym feromonem płciowym. Czasy te były krótsze od czasu poświęconego na kontakt z suką w cieczce. Uzyskane rezultaty nie potwierdzają przydatności Eau D'Estrus® do stymulacji odruchów płciowych u psów. Aczkolwiek Goodwin i wsp. [2] opublikowali pracę mówiącą o identyfikacji substancji semiochemicznych mających być feromonami płciowymi psa, badania Kruse i Howarda [3] nie potwierdziły przydatności opisanych tam związków do wywoływania specyficznych zachowań płciowych u samców tego gatunku. Biorąc pod uwagę, iż feromony bardzo rzadko działają jako pojedyncze substancje, a zazwyczaj aktywność wykazują jako mieszaniny związków, jak również fakt, iż do tej pory pełen skład mieszaniny substancji semiochemicznych wydzielanych przez suki w rui nie został określony, stworzenie produktu skutecznie naśladującego działanie wydzieliny rujowej i powodującej erotyzację samców jest trudne.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dzieciół M., Stańczyk E., Noszczyk-Nowak A., Nizański W., Ochota M., Kozdrowski R., 2012. Influence of the bitches sex pheromones on the heart rate and chosen parameters of the blood flow of the stud dogs (*Canis familiaris*). Res. Vet. Sci., <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.02.009>
- [2] Goodwin M., Gooding K.M., Regnier F., 1979. Sex pheromone in the dog. Science, 203, 559–561.
- [3] Kruse S.M., Howard W.E., 1983. Canid sex attractant studies. J. Chem. Ecol., 9: 1503–151.





## PRZYDATNOŚĆ METOD IMMUNOHISTOCHEMICZNYCH W OCENIE STOPNIA ZŁOŚLIWOŚCI CZERNIAKÓW U PSÓW

### USEFULNESS OF IMMUNOHISTOCHEMICAL METHODS IN PREDICT DEGREE OF MALIGNANCY IN MELANOMA IN DOGS

Stanisław Dzimira, Janusz A. Madej, Marcin Nowak, Rafał Ciaputa, Małgorzata Kandefer-Gola

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: stanislaw.dzimira@up.wroc.pl

Czerniak złośliwy (*melanoma malignum*) jest agresywnym nowotworem wywodzącym się z komórek barwnikotwórczych – melanocytów i melanoblastów. Stanowi u psów ok. 3–5% wszystkich zmian nowotworowych, a wg różnych źródeł od 9 do 20% nowotworów skóry. Jego lokalizacja jest bardzo różna, miejsca najczęstszego występowania to jama ustna, gałka oczna, skóra i okolica pazurów.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły guzy od psów w różnym wieku (2–14 lat), obu płci, różnych ras i mieszańców nadesłane do badań histopatologicznych, które w rutynowym barwieniu hematoksyliną i eozyną zdiagnozowano jako czerniaki złośliwe. Badania immunohistochemiczne wykonano na skrawkach parafinowych, oznaczając ekspresję wimentyny, niespecyficznej enolazy (NSE), tyrozyminy, białka S100 oraz nm23 i Ki-67 przy użyciu przeciwciał firm DAKO i Novocastra. Skalę reakcji oceniano na podstawie ilości pozytywnie reagujących komórek, oznaczając je w zakresie (+) słabo dodatnie – do 10% pozytywnie reagujących komórek po (++++) silnie dodatnie, czyli ponad 70% pozytywnie reagujących komórek.

**Wyniki i omówienie:** Pozytywne wyniki w postaci reakcji cytoplazmatycznej, błonowej lub jądrowej o różnym nasileniu otrzymano we wszystkich badanych guzach. Najsilniejsze i najliczniejsze (85–100% badanych zmian) reakcje uzyskano z przeciwciałami anty S100, wimentynie, niespecyficznej enolazie oraz tyrozyminie i Ki-67, słabiej nasilone z przeciwciałem anty nm23. Otrzymane wyniki badań są porównywalne do danych dostępnych w piśmiennictwie w zakresie reakcji z markerami typowymi dla komórek czerniaków. Aktywność proliferacyjna guzów oznaczana na podstawie pozytywnej reakcji anty Ki-67 była wysoka we wszystkich badanych przypadkach (++/+++, tj. 26 do 75% komórek reagujących dodatnio). Pozytywne reakcje z przeciwciałem anty nm23 cechowały się zdecydowanie mniejszym nasileniem (++, 26–50% pozytywnych komórek). Na tej podstawie stwierdzono, że wysoka aktywność mitotyczna nie w każdym przypadku koreluje wysoce dodatnio ze zdolnością przerzutową komórek czerniaków złośliwych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Carlson A.J., Ross J.S., Slominski A.J., 2009. New techniques in dermatopathology that help to diagnose and prognosticate melanoma. *Clinics in Dermatology*, 27, 75–102.
- [2] Hoenig R., Mischke R., Hewicker Trautwein M., 2002. Use of immunocytochemical techniques in canine melanoma. *J. Vet. Med. A*, 49, 198–202.
- [3] Koenig A., Wojcieszyn J., Weeks B.R., Modiano J.F., 2001. Expression of S100a, vimentin, NSE and melan A/MART-1 in seven canine melanoma cell lines and twenty-nine retrospective cases of canine melanoma. *Vet. Pathol.*, 38, 427–435.
- [4] Ramos Vara J.A., Beissenherz M.E., Miller M.A., Johnson G.C., Pace W., Fard A., Kottler S.J., 2000. Retrospective study of 338 canine oral melanomas with clinical, histologic and immunohistochemical review of 129 cases. *Vet. Pathol.*, 37, 597–608.





## ZMIANY MORFOLOGICZNE W BŁONIE ŚLUZOWEJ ŻOŁĄDKA W PRZEBIEGU KOMÓRKOWEGO ZAPALENIA JELIT U PSÓW

### MORPHOLOGICAL CHANGES OF GASTRIC MUCOSA DURING CELLULAR ENTERITIS IN DOGS

Michał Gesek<sup>1</sup>, Iwona Otrocka-Domagala<sup>1</sup>, Katarzyna Paździor<sup>1</sup>, Marzena Wiśniewska<sup>1</sup>,  
Andrzej Rychlik<sup>2</sup>, Tadeusz Rotkiewicz<sup>1</sup>, Andrzej Depta<sup>2</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Anatomii Patologicznej, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, <sup>2</sup>Katedra Diagnostyki Klinicznej, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, e-mail: [michal.gesek@uwm.edu.pl](mailto:michal.gesek@uwm.edu.pl)

Przewlekłe niespecyficzne zapalenie jelit (NZJ – ang. Inflammatory Bowel Disease – IBD) często występuje u psów i charakteryzuje się naciekami komórkowymi w błonie śluzowej dwunastnicy, jelita czczego, a rzadziej okrężnicy. Wśród komórek naciekających błonę śluzową stwierdza się limfocyty, komórki plazmatyczne i granulocyty eozynochłonne.

**Cel pracy:** Prześledzenie zmian morfologicznych w błonie śluzowej żołądka u psów, u których badaniem klinicznym i histopatologicznym wycinków błony śluzowej jelit stwierdzono przewlekłe komórkowe zapalenie (NZJ).

**Materiał i metody:** Badanie przeprowadzono na 14 psach, w tym 7 samcach i 7 sukach, które badaniem klinicznym zakwalifikowano jako psy chore z podejrzeniem NZJ. U psów przeprowadzono badanie endoskopowe przewodu pokarmowego, w trakcie którego pobierano wycinki błony śluzowej żołądka, dwunastnicy, jelita czczego i okrężnicy [1, 2]. Pobrane wycinki utrwalano w 10% zbuforowanej formalinie o pH 7,4, zata-piano w kostki parafinowe, a skrawki mikrotomowe barwiono hematoksyliną i eozyną, PAS wg met. McManusa i wg met. Massona.

**Wyniki i omówienie:** Badaniem histopatologicznym wycinków błony śluzowej jelit stwierdzano limfocytarne zapalenie błony śluzowej jelit cienkich i okrężnicy (6 samców, 4 suki), plazmocytowe zapalenie dwunastnicy i jelita czczego (1 samiec, 2 suki) i eozynofilne zapalenie jelita czczego (1 suka). W błonie śluzowej żołądka u wszystkich badanych zwierząt wykazano zanik dołeczków żołądkowych, rozplem tkanki łącznej włóknistej pod nabłonkiem i wokół gruczołów żołądkowych. Na powierzchni błony śluzowej żołądka stwierdzono dużą ilość śluzu z licznymi złuszczoneymi komórkami gruczołowymi. U 2 samców i 4 samic za-jestrowano niewielkiego stopnia przekrwienie naczyń krwionośnych. U wszystkich zwierząt w błonie śluzowej żołądka stwierdzono skupiska limfocytów i plazmocyto-w oraz komórek eozynofilnych u jednej suki. Na podstawie zmian mikroskopowych w błonie śluzowej żołądka wykazano u 6 psów ostre nieżytowe zapalenie błony śluzowej żołądka, u 3 przewlekłe przerostowe zapalenie błony śluzowej żołądka, u 2 psów zanikowe zapalenie błony śluzowej żołądka i u 3 zwłóknienie błony śluzowej. Etiopatogeneza NZJ u psów nie jest dokładnie wyjaśniona. Wśród wielu badaczy przeważa pogląd, że ważną rolę w rozwoju NZJ odgrywa nadwrażliwość tkanki limfatycznej na antygeny jelitowe [1]. Zgodnie z wytycznymi sekcji gastroenterologicznej World Small Animal Veterinary Association w rozpoznaniu NZJ u psów należy wykluczyć znane przyczyny przewlekłego zapalenia jelit, wykonać badanie endoskopowe żołądka i jelit z pobraniem wycinków błony śluzowej do badania histopatologicznego [2]. Zastosowana metoda endoskopowego badania przewodu pokarmowego pozwala na ocenę skuteczności leczenia psów z przewlekłym niespecyficznym zapaleniem jelit z równoczesnym występowaniem zmian morfologicznych w błonie śluzowej żołądka.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Craven M., Simpson J.W., Ridyard A.E., Chandler M.L., 2004. Canine inflammatory bowel disease: retrospective analysis of diagnosis and outcome in 80 cases (1995–2002). *J. Small Anim. Pract.*, 45, 336–342.
- [2] German A.J., Hall E.J., Day M.J., 2003. Chronic intestinal inflammation and intestinal disease in dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, 17, 8–20.



## CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA GŁUCHOTY WRODZONEJ U BADANEJ GRUPY BULTERIERÓW W POLSCE

### PREVALENCE OF CANINE CONGENITAL SENSORINEURAL DEAFNESS IN THE EVALUATED GROUP OF BULL TERRIERS IN POLAND

Elżbieta Giza, Marcin Wrzosek, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: giza.elzbieta@gmail.com

Predyspozycje do głuchoty czuciowo-nerwowej stwierdzono u ponad 90 ras psów, w tym psów rasy bulterier. U psów wielu ras wykazano pozytywną korelację pomiędzy głuchotą wrodzoną a umaszczeniem białym bądź merle, a także niebieską barwą tęczówki oka. Badanie słuchu u szceniąt tych ras pozwala na eliminację osobników jednostronnie lub obustronnie głuchych z hodowli. Badanie słuchowych potencjałów wywołanych pnia mózgu (z ang. *brainstem auditory-evoked response* BAER) jest jedyną obiektywną metodą oceny słuchu u zwierząt, poprzez badanie aktywności nerwu czaszkowego przedsionkowo-słuchowego (NC VIII) oraz części słuchowej pnia mózgu.

**Cel badań:** Określenie częstości występowania głuchoty wrodzonej u badanej grupy psów rasy bulterier.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły 32 bulteriery, w wieku 1,5–69 miesięcy (mediana 4,5), w tym 16 suk i 16 psów, będące pacjentami pracowni neurologicznej Katedry Chorób Wewnętrznych Kliniką Koni, Psów i Kotów. Badanie BAER zostało przeprowadzane podczas oceny profilaktycznej miotów psów, w celu potwierdzenia bądź wykluczenia jedno- lub obustronnej głuchoty. Do badania BAER użyto specjalistycznej aparatury Viking Quest z oprogramowaniem Viking Producer wersja 11.0. Wszystkie zwierzęta przeszły pełne badanie kliniczne, neurologiczne oraz otoskopowe. Badanie przeprowadzono w sedacji medetomidyną 20 µg/kg w połączeniu z butorfanolem 0,1mg/kg domięśniowo. Bodziec słuchowy aplikowany został poprzez słuchawki insercyjne, wprowadzone do kanału słuchowego zewnętrznego. Stymulacje miały natężenie bodźca o częstotliwości 11 Hz, 1000 impulsów i głośności początkowo 75, 90, następnie 105 dB. W celu uzyskania zapisu BAER zastosowano podskórne elektrody igłowe (igły stalowe o długości długość 12 mm), które umieszczono według obowiązujących schematów. Elektrode referencyjną umieszczono na wysokości wyrostka suteczkowego obustronnie, elektrodę aktywną na szczycie głowy (vertex), elektrodę uziemiającą na karku. Po przeprowadzeniu zapisu przeprowadzono identyfikację fal potencjałów wywołanych (od I do VII). Każda z fal została zdefiniowana pod względem czasu trwania (w milisekundach) oraz wychylenia (w miliwoltach).

**Wyniki i omówienie:** W przebadanej populacji bulterierów w Polsce głuchota została wykryta u 18,8% osobników (2 samców i 4 samic). Nie wykazano zależności pomiędzy występowaniem głuchoty wrodzonej a płcią. Wszystkie zwierzęta dotknięte głuchotą były białe bądź białe ze znaczeniami. Trzy osobniki (9,4%) były jednostronnie głuche i 3 (9,4%) wykazały głuchotę jednostronną. Udział jednostronnie głuchych osobników w badanej populacji jest zbliżony do wcześniej odnotowanego [2], gdzie wynosił on 9,9% osobników, natomiast procent obustronnie głuchych osobników jest znacznie wyższy niż we wcześniejszych badaniach (odpowiednio 9,4 i 1,1% bulterierów).

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kang B., Lee S., Jung D., Kim H., Woo E., Park H., 2008. Bilateral Congenital Deafness in a White Bull Terrier; Brainstem Auditory Evoked Response Findings. *Journal of Veterinary Medicine*, 25, 506–509.
- [2] Strain G.M., 2004. Deafness prevalence and pigmentation and gender associations in dog breeds at risk, *The Veterinary Journal*, 167, 23–32.



## ZASTOSOWANIE TECHNIK ELEKTRODIAGNOSTYCZNYCH W DIAGNOSTYCE CHORÓB OBWODOWEGO UKŁADU NERWOWEGO U PSÓW I KOTÓW

### USE OF THE ELECTRODIAGNOSTIC TECHNIQUES IN THE DIAGNOSIS OF THE PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM DISEASES IN DOGS AND CATS

Elżbieta Giza, Marcin Wrzosek, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: giza.elzbieta@gmail.com

Badania elektrodiagnostyczne stanowią podstawę postępowania diagnostycznego w przypadku chorób obwodowego układu nerwowego, do którego zaliczamy: korzenie nerwowe, nerwy obwodowe, mięśnie oraz płytkę motoryczną. Wskazaniem do badania są zarówno uogólnione, jak i lokalne uszkodzenia w zakresie tak zwanego dolnego neuronu ruchowego, czyli funkcjonalnej jednostki neurologicznej zaliczające ww. struktury. Do najczęściej stosowanych technik elektrodiagnostycznych zaliczamy: elektromiografię (EMG), elektroneuroografię, czyli badanie przewodnictwa nerwowego (MNCV), a także elektrofizjologiczną ocenę płytki nerwowo-mięśniowej (*repetitive nerve stimulation*- RNS) i badanie korzeni nerwowych, do którego zaliczamy przede wszystkim ocenę fali F (*f wave*).

**Cel badań:** Ocena zastosowania technik elektrodiagnostycznych w diagnostyce chorób obwodowego układu nerwowego u psów i kotów.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 60 pacjentów pracowni neurologicznej Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, przyjętych do badań w okresie pomiędzy 1.02.2010 a 30.04.2012. Znaczną część, czyli 51 osobniki stanowiły psy różnych ras (samce 32, samice 19), natomiast liczba kotów wynosiła 9 (samce 5, samice 4). Wszystkie zwierzęta wykazywały, lokalne lub uogólnione, objawy zaburzeń dolnego neuronu ruchowego w postaci osłabienia odruchów rdzeniowych kończyn, osłabienia odruchów nerwów czaszkowych. Do badania użyto specjalistycznej aparatury Nicolet Viasis Healthcare Viking Quest wersja 11.0. Badanie przeprowadzono w sedacji medetomidyną 20 µg/kg w połączeniu z butorfanolem 0,1 mg/kg domięśniowo oraz wprowadzeniu w sen poprzez podanie propofolu w dawce 2–6 mg/kg dożylnie.

**Wyniki i omówienie:** Wśród przebadanych zwierząt za pomocą badania elektrodiagnostycznego potwierdzono obecność polineuropatii tła metabolicznego u 18 przypadków (30%), zapalenia wielokorzeniowego i wielonerwowego u 8 (13%), nużliwości mięśni u 8 (13%), monoparezy tła neurologicznego u 7 (12%), zapalenia wielomięśniowego u 5 (8,3%), zespołu końskiego ogona u 4 (6,6%), wrodzonej ataksji Jack Russel Terrierów u 3 (5%), zaburzeń splotu barkowego u 3 (5%), drzeń tła neurologicznego u 2 (3,3%), miotonii u 1 (1,6%) oraz zaburzenia ortopedycznego u 1 (1,6%) pacjentów. Badania elektrodiagnostyczne umożliwiły obiektywną ocenę stopnia, dystrybucji oraz charakteru procesu chorobowego u opisywanych pacjentów. Badania elektrodiagnostyczne powinno w każdym przypadku pacjenta z zaburzeniami obwodowego układu nerwowego stanowić standardowe postępowanie diagnostyczne.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cuddon P.A., 2000. *Electrodiagnosis in Veterinary Neurology: Electromyography, Nerve Conduction Studies, and Evoked Responses*. Loveland, CO.
- [2] Cuddon P.A., 2002. *Electrophysiology in neuromuscular disease*. *Vet Clin North Am Small Anim Prac.* Jan, 32(1), 31–62.
- [3] Jaggy Andre, 2005. *Atlas podręcznik neurologii małych zwierząt*, 176–184.



## HEMOCHROMATOZA WĄTROBY – OPIS PRZYPADKU

### LIVER HEMOCHROMATOSIS – CASE REPORT

**Kamila Glińska-Suchocka<sup>1</sup>, Marcin Jankowski<sup>1</sup>, Jolanta Spużak<sup>1</sup>, Krzysztof Kubiak<sup>1</sup>,  
Maciej Grzegory<sup>1</sup>, Agnieszka Hałoń<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: kamila.glinska@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Akademia Medyczna we Wrocławiu, Katedra i Zakład Patomorfologii, ul. Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław

Hemochromatoza jest rzadką chorobą, polegającą na nadmiernym wchłanianiu żelaza z przewodu pokarmowego i jego odkładaniu się w tkankach ustrojowych. W medycynie ludzkiej wyróżnia się dwie postacie choroby: hemochromatozę pierwotną (dziedziczną), będącą następstwem defektu genetycznego warunkującego nadmierne wchłanianie żelaza z przewodu pokarmowego oraz postać wtórną (syderoza wtórna) [1].

**Cel pracy:** Przedstawienie własnych doświadczeń związanych z rozpoznawaniem hemosyderozy wątroby u psa na podstawie opisu przypadku klinicznego.

**Materiał i metody:** Opis przypadku dotyczy psa rasy labrador, samca w wieku 10 lat. U psa postępowanie diagnostyczne przeprowadzono wg następującego schematu: wywiad, badanie kliniczne, badania laboratoryjne krwi, badanie USG jamy brzusznej. U zwierzęcia na podstawie wyników badań laboratoryjnych i diagnostyki obrazowej stwierdzono niewydolność wątroby. W celu potwierdzenia rozpoznania u psa wykonano biopsję gruboigłową wątroby. Pobrany bioptat wątroby barwiono standardowymi metodami histopatologicznymi oraz dodatkowo wykonano badanie histochemiczne (Prussian blue wg Pearlsa) na obecności żelaza w tkance wątrobowej. Dodatkowo u psa wykonano rekto- i kolonoskopię, podczas której pobrano wycinki jelita grubego. Biopaty również poddano badaniu histopatologicznemu w celu stwierdzenia obecności złogów żelaza.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach laboratoryjnych krwi stwierdzono anemię, małopłytkowość, wzrost aktywności enzymów wątrobowych (ALT, AST, GGT, ALP) oraz wzrost stężenia żelaza. W badaniu USG jamy brzusznej wątroba była znacznie pomniejszona o zmiennej echogeniczności. W pozostałych narządach jamy brzusznej nie wykazano zmian patologicznych. Na podstawie badania histopatologicznego wątroby rozpoznano: przewlekłe zapalenie wątroby o umiarkowanej aktywności i nasileniu z towarzyszącym zaawansowanym włóknieniem bez dokonanej marskości oraz ze spichrzaniem żelaza w umiarkowanej ilości (25%). Obraz morfologiczny narządu odpowiadał hemochromatozie. W badaniu histopatologicznym wycinków błony śluzowej jelita grubego nie stwierdzono złogów żelaza. Syderozy wtórne wywołane są nadmierną podażą żelaza z pokarmem, zmniejszenia zużycia żelaza w zaburzeniach krwiotworzenia, nadmiernym uwalnianiem żelaza z krwinek czerwonych i komórek wątrobowych oraz zwiększoną podażą w następstwie licznych transfuzji [2]. Wątroba ma duże zdolności do gromadzenia żelaza, co powoduje częsty rozwój marskości i wielogniskowego raka pierwotnego wątroby [3]. W opisywanym przypadku wykluczono syderozę związaną z zaburzeniami ze strony układu pokarmowego, ponieważ w badaniu histopatologicznym wycinka jelita nie stwierdzono obecności złogów żelaza. U zwierzęcia nie były wykonywane również transfuzje, dlatego prawdopodobną przyczyną choroby i uszkodzenia miększu wątroby było nadmierne uwalnianie żelaza z krwinek czerwonych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Powell L.W., George K.G., McDonnell S.M., Kowdley K.V., 1998. Diagnosis of hemochromatosis. *Ann. Intern. Med.*, 129, 925–931.
- [2] Sprague W.S., Hackett T.B., Johnson J.S., Swardson-Olver C.J., 2003. Hemochromatosis secondary to repeated blood transfusions in a dog. *Veterinary pathology*, 40, 334–33.
- [3] Fairbanks V.F., Brandhagen D.J., 2001. Disorders of iron storage and transport, [in:] Williams Hematology, ed. Beutler E., Lichtman S.M., Coller B.S., Kipps T.J., Seligsohn U., 6th ed., 489–502. McGraw-Hill, New York.



## ANALIZA PARAMETRÓW RÓWNOWAGI KWASOWO-ZASADOWEJ U PSÓW Z PRZEWLEKŁĄ NIEWYDOLNOŚCIĄ WĄTROBY

### ANALYSIS OF ACID-BASE BALANCE DOGS WITH LIVER DISEASE

**Kamila Glińska-Suchocka, Piotr Sławuta, Marcin Jankowski, Krzysztof Kubiak, Jolanta Spużak,  
Maciej Grzegory**

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: kamila.glinska@up.wroc.pl*

Pod pojęciem równowagi kwasowo-zasadowej (RKZ) należy rozumieć mechanizmy homeostazy ustrojowej, które są odpowiedzialne za utrzymanie optymalnego stężenia jonów wodorowych w przestrzeniach wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych. W związku z tym produktami przemian metabolicznych są głównie związki oddające jon wodorowy, czyli kwasy (wg teorii Brönsteda). Utrzymanie równowagi kwasowo-zasadowej wymaga buforowania zmiennych stężeń jonu wodorowego oraz eliminacji równoważników kwaśnych przez płuca i przez nerki. U zwierząt z marskością wątroby w wyniku uszkodzenia hepatocytów i komórek Kupffera oraz zaburzeń w krążeniu wątrobowym (zespolecie wewnątrzwątrobowe) może dojść do różnego typu zaburzeń równowagi kwasowo zasadowej, zwłaszcza o charakterze metabolicznym [1].

**Cel badań:** Ocena parametrów równowagi kwasowo-zasadowej u psów z marskością wątroby.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono u 8 psów, pacjentów Przychodni Weterynaryjnej Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. U wszystkich zwierząt na podstawie wyników biopsji gruboigłowej wątroby i badania wycinków narządu rozpoznano marskość wątroby. Od zwierząt pobierano krew żylną w celu wykonania badania morfologicznego i biochemicznego poszczególnych parametrów krwi, dodatkowo z tętnicy udowej pobierano 1 ml pełnej krwi do heparynizowanej strzykawki zaopatrzonej w igłę o średnicy 0,7 mm, w celu oznaczenia parametrów równowagi kwasowo-zasadowej: pH, ciśnienie cząstkowe CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>) i stężenie wodorowęglanów (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Krew natychmiast po pobraniu była dostarczana do laboratorium analitycznego. Interpretacji otrzymanych wyników dokonywano na podstawie modelu klasycznego, wykorzystującego równanie Hendersona-Hasselbacha:

$$\text{pH} = 6,11 + \log \frac{\text{HCO}_3^-}{\text{pCO}_2}$$
, oraz elementy modelu Stewarta, obliczając wartość różnicy jonów pochodzących od mocnych elektrolitów (strong ion difference) – SID wg wzoru:

$$\text{SID} = (\text{Na} + \text{K}) - \text{Cl} \quad [2].$$

**Wyniki i omówienie:** W przeprowadzonych badaniach u wszystkich badanych zwierząt nie stwierdzono zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej. Badane parametry pozostawały w górnych granicach normy fizjologicznej, co świadczy o dużej sprawności układu buforowego kwas węglowy/ wodorowęglany, utrzymującego właściwe pH osocza krwi mimo procesu zwyrodnieniowego.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Sławuta P., Nicpoń J., Skrzypczak P., 2010. Contemporary approach to acid-base balance and its disorders in dogs and cats. Pol. J. Vet. Sci., 13, 561–567.
- [2] Constable P.D., 2000. Clinical assessment of acid-base status: comparison of the Henderson-Hasselbalch and strong ion approaches. Vet. Clin. Pathol., 29, 115–128.





## ANALIZA PARAMETRÓW RÓWNOWAGI KWASOWO-ZASADOWEJ (PH, PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>) OZNACZONYCH W PŁYNIE Z JAMY OTRZEWNEJ W DIAGNOSTYCE WODOBRZUSZA POCHODZENIA NOWOTWOROWEGO

### ANALYSIS OF ACID-BASE BALANCE (PH, PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>) MARKED IN LIQUID FROM THE PERITONEAL CAVITY IN THE DIAGNOSIS OF NEOPLASMA ASCITES

Kamila Glińska-Suchocka, Piotr Sławuta, Marcin Jankowski, Krzysztof Kubiak, Jolanta Spuzak, Maciej Grzegory

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: kamila.glinska@up.wroc.pl

W przypadku obecności nadmiernej ilości płynu w jamie otrzewnej konieczne jest, ze względu na rokowanie i możliwości terapii, podjęcie postępowania diagnostycznego, które określi jego pochodzenie. W diagnostyce różnicowej przyczyn wodobrzusza istotne jest określenie charakteru płynu gromadzącego się w jamie otrzewnej.

**Cel badań:** Ocena parametrów równowagi kwasowo-zasadowej (pH, pO<sub>2</sub>, pCO<sub>2</sub>) w płynie z jamy otrzewnej w diagnostyce wodobrzusza pochodzenia nowotworowego.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w grupie 30 psów, pacjentów Przychodni Weterynaryjnej Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Psy podzielono na 2 grupy: grupa 1 – psy z wodobrzuszem pochodzenia nowotworowego, grupa 2 – psy z wodobrzuszem pochodzenia nienowotworowego. Materiał do badań stanowił płyn z jamy otrzewnej, pobrany w ramach rutynowej diagnostyki. W celu pobrania materiału wykonywano punkcję jamy brzusznej w linii białej tylnie od pępka. Płyn pobierano do strzykawek z heparyną, a następnie przekazywano do laboratorium analitycznego w celu wykonania badań gazometrycznych. Badania wykonano aparatem Osmotech OPTI Blood Gas Analyser. W pobranym płynie oznaczano następujące parametry RKZ: pH krwi, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>.

**Wyniki i omówienie:** W przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w pH i pCO<sub>2</sub> płynu w obu badanych grupach. Natomiast pO<sub>2</sub> płynu w grupie psów z chorobą nowotworową osiągało istotnie wyższe wartości w porównaniu z grupą psów z wodobrzuszem niezwiązanym z etiologią nowotworową. Przeprowadzone badania wykazały, że w płynie z jamy otrzewnej u pacjentów z wodobrzuszem pochodzenia nowotworowego występuje bardzo wysokie stężenie tlenu. Tlen jest jednym z elementów środowiskowych wywierających istotny wpływ na rozwój procesu nowotworowego. Wzrost pO<sub>2</sub> w płynie puchlinowym pochodzenia nowotworowego prawdopodobnie był wywołany zwiększoną przepuszczalnością tlenu przez naczynia włosowate otrzewnej. Na podstawie badań przeprowadzonych w medycynie ludzkiej stwierdzono, że do wzrostu przepuszczalności otrzewnej w procesach nowotworowych dochodzi w wyniku wzrostu produkcji VEGF przez guzy nowotworowe w rozsianym procesie nowotworowym [1, 2]. W medycynie weterynaryjnej nie badano szczegółowo tego problemu. Inne badania wykazały, że pO<sub>2</sub> w płynie z jamy otrzewnej w rozsianych procesach nowotworowych znacznie przewyższa pO<sub>2</sub> płynu w nowotworach pierwotnych, co może świadczyć o wyższym zapotrzebowaniu na tlen w procesach nowotworowych rozsianych (obejmujących całą jamę brzuszną) [3]. Przeprowadzone badania są wstępem do dalszej analizy zmian zachodzących w jamie otrzewnej w przebiegu procesów nowotworowych, w których dochodzi do powstawania wodobrzusza.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Noh S.M., 2003. Measurement of peritoneal fluid pH in patients with non-serosal invasive gastric cancer. *Yonsei Med. J.*, 44, 45–48.
- [2] Simmen H.P., Blaser J., 2001. Analysis of pH and pO<sub>2</sub> in abscesses, peritoneal fluid, and drainage fluid in the presence tumor therapy. *Semin. Oncol.* 28, 29–35.
- [3] Vaupel P.K.D., Höckel M., 1993. Oxygen status of malignant tumors: pathogenesis of hypoxia and significance for or absence of bacterial infection during and after abdominal surgery. *Am. J. Surg.*, 166, 24–27.



## BADANIE ENDOSKOPOWE CEWKI MOCZOWEJ I PĘCHERZA MOCZOWEGO W ROZPOZNAWANIU CHORÓB DOLNYCH DRÓG MOCZOWYCH PSÓW – OPIS PRZYPADKU KLINICZNEGO

### ENDOSCOPY EXAMINATION OF THE URTEHRA AND URINARY BLADDER IN THE DI- AGNOSIS OF THE LOWER URINARY TRACT DISEASES IN DOGS – A CASE REPORT

**Maciej Grzegory<sup>1</sup>, Krzysztof Kubiak<sup>1</sup>, Marcin Jankowski<sup>1</sup>, Jolanta Spużak<sup>1</sup>,  
Kamila Glińska-Suchocka<sup>1</sup>, Stanisław Dzimira<sup>2</sup>, Agnieszka Hałoń<sup>3</sup>, Wojciech Hildebrand<sup>1</sup>**

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, <sup>2</sup>Katedra Patologii, Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław, <sup>3</sup>Akademia Medyczna we Wrocławiu, Wydział Lekarski, Katedra Patomorfologii, Zakład Patomorfologii, ul. Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław, e-mail: maciek\_grzegory@wp.pl*

Choroby dolnych dróg moczowych są częstym problemem u psów. Powszechnie stosowane badania diagnostyczne, takie jak: badanie fizykochemiczne moczu z osadem, badanie mikrobiologiczne moczu oraz badania radiologiczne i ultrasonograficzne jamy brzusznej nie zawsze pozwalają na postawienie ostatecznego rozpoznania [1]. Endoskopia dolnych dróg moczowych umożliwia rozpoznawanie wielu chorób dotyczących tych narządów, np.: przewlekłych stanów zapalnych, zmian rozrostowych, krwimoczu o nieustalonej etiologii oraz kamicy pęcherza i cewki moczowego [2].

**Cel pracy:** Przedstawienie własnych doświadczeń, związanych z endoskopowym rozpoznawaniem chorób dolnych dróg moczowych na podstawie opisu przypadku klinicznego.

**Materiał i metody:** Opisany przypadek kliniczny dotyczy psa, rasy syberian husky, samicy, w wieku 12 lat, skierowanego do pracowni endoskopowej, w celu wykonania wziernikowania cewki moczowej i pęcherza moczowego. W wywiadzie ustalono, że u zwierzęcia występują problemy z oddawaniem moczu takie jak: kropelkowe oddawanie moczu, stranguria, częstomocz oraz krwimocz. Badanie endoskopowe dolnych dróg moczowych przeprowadzono ureterorenofiberoskopem o długości 67 cm i średnicy 2,5 mm.

**Wyniki i omówienie:** Podczas ureterocystoskopii stwierdzono w końcowym odcinku cewki moczowej oraz w pęcherzu moczowym liczne zmiany rozrostowe o nierównej powierzchni, z tendencją do krwawienia. W związku z tym pobrano wycinki z tej zmiany do oceny histopatologicznej. W badaniu histopatologicznym wykazano raka wywodzącego się z nabłonka przejściowego (*urothelial carcinoma*). Etiologia tego typu nowotworu nie jest jeszcze do końca poznana. Przypuszcza się, że może mieć charakter wieloczynnikowy. Guzy dolnych dróg moczowych są stosunkowo rzadko spotykanymi zmianami rozrostowymi w praktyce lekarsko-weterynaryjnej, gdyż stanowią około 1% przypadków nowotworów rozwijających się u psów i około 1,5–2% wszystkich nowotworów złośliwych rozpoznawanych u tego gatunku. Wśród złośliwych zmian rozrostowych dolnych dróg moczowych najczęściej diagnozowane są: raki z nabłonka przejściowego, gruczolakoraki oraz chłoniaki. Ze zmian łagodnych często diagnozuje się brodawczaki z nabłonka przejściowego, włókniaki i mięsaki gładkokomórkowe [3].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cannizzo K.L., McLoughlin M.A., Chew D.J., DiBartola S.P., 2001. Uroendoscopy – evaluation of the lower urinary tract. *Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.*, 31:4, 789–801.
- [2] Nicpoń J., Kubiak K., 2000. Endoskopia układu moczowego, [w:] *Badanie endoskopowe psów i kotów*. AWA, Wrocław, 59–60.
- [3] Crow S.E., 2008. Canine cancer genetics: transitional cell carcinoma in Scottish terriers. *Cancer Therapy*, 6, 177–180.



## DOOTRZEWNOWA CHEMIOTERAPIA U KOTÓW Z CHŁONIAKIEM

### INTRAPERITONEAL CHEMOTHERAPY IN CATS WITH MALIGNANT LYMPHOMA

Wojciech Hildebrand, Adriana Krupa, Kamila Glińska-Suchocka, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: wojciech.hildebrand@up.wroc.pl

Chłoniak kotów jest jednym z częściej diagnozowanych nowotworów układu krwiotwórczego. Diagnozowany jest zarówno u kotów nosicieli wirusa FeLV, jak i wolnych. Według niektórych autorów u blisko 70% kotów seropozytywnych na FeLV rozwijają się objawy chłoniaka. Choroba u kotów rozwija się najczęściej w postaci pokarmowej (34,7%), wieloogniskowej (18,8%) i śródpiersiowej (11,8%). Terapia polega na podawaniu leków cytostatycznych w schematach wielolekowych. Najczęściej stosowany jest schemat COP, polegający na używaniu winkrystyny, cyklofosfamidu i prednizolonu w określonym rytmie. Stosując leki cytostatyczne podaje się drogą pokarmową (cyklofosfamid tabletki, prednizolon tabletki) lub dożylną (winkrystyna, cyklofosfamid). Podając leki dożylnie należy szczególną uwagę zwracać na ewentualne wynaczynienia, które mogą doprowadzić do martwicy okolicznych tkanek (winkrystyna). Aby zminimalizować urazy naczyń żylnych i ewentualne miejscowe odczyny polekowe, leki cytostatyczne można podawać u kotów także dootrzewnowo.

**Cel pracy:** Ustalenie praktycznych możliwości stosowania chemioterapii dootrzewnowej i występowania ewentualnych efektów ubocznych u kotów w przebiegu chłoniaka.

**Materiał i metody:** Terapii dootrzewnowej poddano 16 kotów (pacjentów Przychodni Weterynaryjnej przy Katedrze Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu) z rozpoznaniem chłoniakiem. U 4 kotów stwierdzono postać wieloogniskową, 6 – postać jelitową i 6 – postać śródpiersiową. Wszystkim pacjentom podawano dootrzewnowo winkrystynę i cyklofosfamid w wyliczonych dawkach (winkrystyna 0,75 mg/m<sup>2</sup>, cyklofosfamid 300 mg/m<sup>2</sup>) 3 – 13 razy w odstępach 3-tygodniowych. W czasie stosowania leków stosowano zasady aseptyki, podając lek w formie płynnej, w postaci iniekcji dootrzewnowych. Używano płynu fizjologicznego w ilości 5 ml, następnie wyliczoną dawkę leku i ponownie 5 ml płynu. Przed pierwszym podaniem płynu wykonywano aspiracje w celu wykluczenia nakłucia pęcherza moczowego lub pozostałych narządów w jamie otrzewnej. Przed każdym podaniem leków wykonywano badanie USG jamy brzusznej oraz badanie morfologiczne i biochemiczne krwi. Ostatnie badania krwi i USG jamy brzusznej wykonywano 3 tyg. po zakończonej terapii.

**Wyniki i omówienie:** U żadnego z leczonych pacjentów nie zaobserwowano odczynów miejscowych po podaniu leków. Nie obserwowano zmian miejscowych w jamie brzusznej. U wszystkich kotów zaobserwowano co najmniej 6-miesięczną remisję, licząc od rozpoczęcia terapii. Wśród objawów ubocznych prowadzonej chemioterapii zaobserwowano u nielicznych kotów, jako wynik mielosupresji, przemijającą neutroepnię, trombocytopenię bądź niedokrwistość. U większości kotów stwierdzono także utratę wibrysów, a u dwóch osobników powstały wyłysienia w okolicy szyi, które ustąpiły po zakończeniu terapii. Chemioterapia dootrzewnowa jest skuteczną metodą podawania leków cytostatycznych, umożliwiającą chemioterapię u zwierząt, u których wielokrotne wkłucia dożylnie są trudne ze względu na dużą traumatyzację tkanek.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Markmann M., 1999. Intraperitoneal chemotherapy, *Critical Reviews in Oncology: Hematology*, 31: 239–246.
- [2] Moore A.S., Cotter S.M., Frimberger A.E., Wood C.A., Rand W.M., L'Heureux D.A., 1996. A comparison of doxorubicin and COP for maintenance of remission in cats with lymphoma, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 10, 372–375.
- [3] Vail D.M., Moore A.S., Ogilvie G.K., Volk L.M., 1998. Feline lymphoma (145 cases): proliferation indices, cluster of differentiation 3 immunoreactivity, and their association with prognosis in 90 cats, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 12, 349–354.
- [4] Teske E., van Lankveld A.J., Rutteman G.R., 2012. Intraperitoneal antineoplastic drug delivery: experience with a cyclophosphamide, vincristine and prednisolone protocol in cats with malignant lymphoma, *Veterinary and Comparative Oncology*, 1–10.



## ZASTOSOWANIE ENDOSKOPII W ROZPOZNAWANIU I USUWANIU CIAŁA OBCEGO W PRZEŁYKU U PSA – OPIS PRZYPADKU

### THE USE OF ENDOSCOPY IN THE DIAGNOSIS AND REMOVAL OF FOREIGN BODY IN THE ESOPHAGUS OF A DOG – A CASE REPORT

Marcin Jankowski, Jolanta Spużak, Krzysztof Kubiak, Maciej Grzegory,  
Kamila Glińska-Suchocka, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: jank1973@tlen.pl

Jedną z przyczyn zaburzeń funkcjonowania przełyku u psów i kotów, objawiających się najczęściej utrudnionym połykaniem i zwracaniem pokarmu, są ciała obce, które utkwiły w jego świetle. Ciała obce w przełyku częściej spotykane są u psów niż kotów i w większości dotyczą ras małych i zwierząt młodych. Z reguły w przełyku znajdują się one w miejscach o najmniejszej rozciągliwości (np. okolica podstawy serca) lub w okolicy wrodzonych i nabytych zwężeń. Mogą prowadzić do częściowej lub całkowitej niedrożności przełyku. Ciała obce długo przebywające w przełyku prowadzą początkowo do zapalenia tego narządu, a następnie do martwicy jego ściany, co w konsekwencji może doprowadzić do perforacji [1].

**Cel pracy:** Przedstawienie własnych doświadczeń związanych z endoskopowym rozpoznawaniem i usuwaniem ciała obcego w przełyku u psa na podstawie opisu przypadku klinicznego.

**Materiał i metody:** Opis przypadku dotyczy psa, mieszańca, samca, w wieku 7 lat. Ww. pies został skierowany do pracowni endoskopowej z podejrzeniem ciała obcego w przełyku. U psa postępowanie diagnostyczne przeprowadzono wg następującego schematu: wywiad, badanie kliniczne, badania laboratoryjne krwi, badanie radiologiczne oraz badanie endoskopowe. Wziernikowanie przeprowadzono fiberoskopem Olympus GIF XQ-20, a do usunięcia ciała obcego wykorzystano sztywne szczypce Olympus A6997.

**Wyniki i omówienie:** U psa stwierdzono następujące objawy kliniczne: zwracanie pokarmu (wymioty rzekome), częste połykanie, utrudnione połykanie, nadmierne ślinienie, zmniejszony apetyt i pragnienie, nieznacznie zmniejszoną elastyczność skóry oraz nieznacznie przedłużony CRP. Ww. objawy kliniczne są często spotykane w przypadku ciał obcych w przełyku, przy czym ich nasilenie uzależnione jest od czasu trwania choroby, rodzaju ciała obcego, jego umiejscowieniu w przełyku oraz wielkości zwierzęcia [1]. W badaniu hematologicznym stwierdzono wzrost: HCT (0,602 l/l), WBC (29,9 G/l) oraz neutrofilii. Parametry biochemiczne były w granicach normy fizjologicznej. Wzrost ww. parametrów świadczy o odwodnieniu (związane ze zmniejszonym pragnieniem i wymiotami rzekomymi) oraz o ostrym procesie zapalnym. W badaniu radiologicznym stwierdzono ciało obce w części piersiowej przełyku. Należy podkreślić, że badanie RTG jest przydatną techniką diagnostyczną w rozpoznawaniu cieniujących ciał obcych w przełyku. Podczas ezofagoskopii w części piersiowej przełyku stwierdzono obecność ciała obcego (kość), które powodowało całkowitą niedrożność tego narządu. Błona śluzowa przełyku w okolicy wklonowanego ciała obcego była silnie zaczerwieniona i obrzęknięta. Ciało obce usunięto za pomocą sztywnych szczypiec Olympus A6997. Badanie endoskopowe jest jedną z najlepszych technik diagnostycznych pozwalających na rozpoznawanie ciał obcych w przełyku. Umożliwia ono: uwidocznienie każdego rodzaju ciała obcego, precyzyjne określenie jego położenia oraz ocenę zmian w błonie śluzowej. Dodatkowo w większości przypadków technika endoskopowa umożliwia bezpieczne usunięcie ciała obcego bez narażenia zwierzęcia na ciężki zabieg chirurgiczny. Przy czym w dużej mierze uzależnione jest to od czasu trwania choroby. Im dłużej ciało obce jest obecne w przełyku, tym trudniej jest je usunąć i jest to mniej bezpieczne [1].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Juvet F., Pinilla M., Shiel R.E., Mooney C.T., 2010. Oesophageal foreign bodies in dogs: factors affecting success of endoscopic retrieval. *Irish Vet. J.*, 63:3, 163–168.



## ULTRASONOGRAFIA STAWU RAMIENNEGO PSÓW

### ULTRASONOGRAPHY OF THE SHOULDER JOINT IN DOGS

Izabela Janus, Aneta Starczewska, Wojciech Atamaniuk

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Pracownia Diagnostyki Obrazowej Katedry i Kliniki Chirurgii,  
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: atamaniuk@o2.pl

Ultrasonografia układu mięśniowo-szkieletowo jest dziedziną wykorzystywaną w niewielkim stopniu w medycynie weterynaryjnej. Coraz powszechniejszy dostęp do aparatów ultrasonograficznych o coraz lepszych parametrach pozwala wierzyć, że stan ten ulegnie wkrótce zmianie. Jednak – aby możliwe było wykorzystywanie USG do diagnostyki schorzeń stawów i ścięgien, konieczne jest opracowanie obrazu ultrasonograficznego prawidłowych struktur.

**Cel pracy:** Określenie prawidłowego obrazu ultrasonograficznego stawu ramiennego psa oraz przedstawienie możliwości wykorzystania USG w diagnostyce zmian układu mięśniowo-szkieletowego.

**Materiał i metody:** W pierwszym etapie badań wykorzystywany był preparat pośmiertny w postaci kończyny piersiowej zakonserwowany roztworem formaliny. Na tym przykładzie omówiony został obraz ultrasonograficzny stawu ramiennego oraz jego okolicy. Następnie zostało to porównane do obrazów USG uzyskanych z badań przeprowadzonych przyżyciowo. Do badań użyto aparatu ultrasonograficznego wyposażonego w sondę typu convex.

**Wyniki i omówienie:** W pracy ukazano możliwość zobrazowania więzadeł wzmacniających torebkę stawową (*ligamentum glenohumerale mediale et laterale, ligamentum transversum*), ścięgien okolicznych mięśni (*musculus biceps brachii, musculus infraspinatus*) oraz chrząstki stawowej kości ramiennej. Zlokalizowanie powyższych struktur umożliwia diagnozowanie zmian tej okolicy, takich jak: mineralizacja lub zerwanie ścięgien mięśni, zwiększenie ilości płynu wewnątrz jamy stawowej itp.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Long C.D., Nyland T.G., 1999. Ultrasonographic evaluation of the canine shoulder, [in:] Veterinary Radiology & Ultrasound. Blackwell Publishing.





## RÓŻNE GUZY GRUCZOŁU SUTKOWEGO, TORBIELE JAJNIKOWE I ROPOMACICZE TRZONU MACICY U SUKI PO ZABIEGU USUNIĘCIA MACICY

### DIFFERENT TUMORS, OVARIAN CYST AND UTEROCERVICAL STUMP INFLAMMATION IN HYSTERECTOMIZED BITCH

Piotr Jurka, Joanna Borkowska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, ul. Nowoursynowska 166, 02-767 Warszawa, e-mail: piotr\_jurka@sggw.pl

Zabieg usunięcia macicy (*histerectomia-H*), oprócz zabiegu usunięcia jajników (*ovarioectomia, OE*) i zabiegu usunięcia macicy i jajników (*ovariohisterectomia, OH*), jest jedną z chirurgicznych metod kastracji suk [1, 2]. Zabieg ten stosowany jest również w leczeniu zespołu EPC [2]. Obecnie zabieg usunięcia macicy jest zabiegiem rzadko wykonywanym [3, 4]. W niektórych przypadkach zabieg ten wybierany jest zamiast *OH* i *OE*, aby zapobiec zmianom behawioralnym i nadwadze występującym w następstwie usunięcia jajników. Obecnie kwestionuje się celowość kastracji tą metodą [2, 4]. Pozostawienie jajników po zabiegu wycięcia macicy nie eliminuje wpływu hormonów jajnikowych na organizm suki. Wiadomo, że progesteron (P4) i estrogeny (E) mogą być jednymi z głównych czynników wpływających na rozwój nowotworów gruczołu sutkowego u suk. Usunięcie jajników u zwierząt młodych znacznie zmniejsza ryzyko rozwoju nowotworów sutka [1].

**Cel pracy:** Przedstawienie złożonych powikłań powstałych po zabiegu usunięcia macicy z pozostawieniem trzonu macicy.

**Materiały i metody:** Pacjent, 9-letnia suka, u której zabieg usunięcia macicy przeprowadzono w wieku 6 lat. Wykonano ocenę stanu klinicznego, zdjęcie RTG klatki piersiowej (boczne i strzałkowe), USG jamy brzusznej, oznaczono stężenie hormonów steroidowych (P4 i E) metodą immunofluorescencyjną, wykonano zabieg częściowego usunięcia tkanki gruczołu sutkowego z przynależnym węzłem chłonny. Pozostawione jajniki zostały usunięte. Zbadano histologicznie usunięte tkanki. Po upływie 5 miesięcy stwierdzono ponownie guzy nowotworowe sutka. Wykonano ponownie zabieg usunięcia guzów sutka z ich oceną histopatologiczną.

**Wyniki i omówienie:** Pierwsze badanie kliniczne wykazało guzy sutka w piątej parze sutek po stronie lewej. RTG klatki piersiowej był bez zmian. USG jamy brzusznej wykazało torbiele na obu jajnikach. Dodatkowo potwierdzono ropomacicze pozostawionego trzonu macicy. W badaniach hormonalnych stwierdzono podwyższony poziom P4 oraz E. W badaniu histologicznym wykryto gruczolakoraka gruczołu sutkowego. Po 5 miesiącach drugie badanie wykazało obecność guzów sutka w 3 i 4 parze sutek po stronie prawej. Wyniki badania histologicznego wskazały na raka złożonego oraz guza mieszanego. Pozostawienie jajników po zabiegu usunięcia macicy może prowadzić do skutków ubocznych ze strony układu rozrodczego. Stwierdzono powikłania takie jak: torbiele na jajnikach oraz guzy nowotwory gruczołu sutkowego. Dodatkowo pozostawienie trzonu macicy może prowadzić do zmian zwyrodnieniowych oraz zapalnych tego odcinka macicy. Skutki uboczne usunięcia jajników, takie jak nadwaga i zaburzenia behawioralne, są niegroźne i łatwo im zapobiegać. Powikłania po usunięciu macicy natomiast mogą być złożone i trudne w leczeniu lub nawet nieuleczalne. W badanym przypadku długotrwały wpływ hormonów steroidowych na tkankę gruczołu sutkowego mógł być przyczyną powstania guzów nowotworowych sutka, a usunięcie jajników nie zapobiegło rozwojowi nowych w późniejszym czasie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dekel A., Efrat Z., Orvieto R. et al., 1996. The residual ovary syndrome: a 20-year experience. Eur. J. Obstet Gynecol. Reprod. Biol., 68, 159–64.
- [2] Goethem B., Schaefers-Okkens A., Kirpensteijn J., 2006. Making a rational choice between ovariectomy and ovariohysterectomy in the dog: a discussion of the benefits of either technique. Vet. Surg., 35, 136–43.
- [3] Fat B.C., Terzibachian J.J., Bertrand V. et al., 2009. Ovarian remnant syndrome: diagnostic difficulties and management. Gynecol Obstet Fertil., 37, 488–94.
- [4] Buijtel J.J., de Gier J., Kooistra H.S. et al., 2010. Alterations of the pituitary-ovarian axis in dogs with a functional granulosa cell tumor. Theriogenology, 73, 11–9.



## ZAŚNIAD GRONIASTY U KOTKI – OPIS PRZYPADKU ORAZ PRÓBA USTALENIA PODŁOŻA GENETYCZNEGO

### PARTIAL HYDATIDIFORM MOLE DIAGNOSIS IN A CAT – A CASE REPORT AND ATTEMPT TO ESTABLISH ITS GENETIC BACKGROUND

Piotr Jurka<sup>1</sup>, M. Sacharczuk<sup>2</sup>, Małgorzata Sobczak-Filipiak<sup>3</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Małych Chorób Zwierząt z Kliniką, <sup>2</sup>Katedra Patologii i Diagnostyki Obrazowej  
<sup>3</sup>Polska Akademia Nauk w Jastrzębcu, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt, e-mail: piotr\_jurka@sggw.pl

Badanie przyczyn urodzenia martwych płodów u różnych gatunków zwierząt pozostaje stale aktualnym problemem dla lekarzy weterynarii oraz hodowców. Anomalie rozwojowe martwo urodzonego płodu przedłożonego do badania histopatologicznego często są dwuznaczne i trudne do tłumaczenia [1]. Ponadto, użycie wysoko wydajnych cytogenetycznych technik jest ograniczone albo po prostu niemożliwe z powodu braku żywych, dzielących się komórek [2]. Dlatego, w ciągu ostatnich kilku lat zaczęto wykorzystywać techniki biologii molekularnej do szerokiej diagnostyki przyczyn występowania anomalii rozwojowych [3].

**Materiał i metody:** Materiałem do badań był urodzony martwy kociak rasy norweski leśny wraz z łożyskiem. Klinicznie kociak urodził się z niską wagą urodzeniową (55 g) oraz cechami opóźnionego rozwoju, a łożysko miało znaczną liczbę różnych rozmiarów torbieli z jasnym klarownym płynem wewnątrz. Materiał został utrwalony w formalinie i poddany rutynowemu badaniu histopatologicznemu. Aby zweryfikować diagnozę, wykonano dodatkowe testy genetyczne na próbkach DNA zebranych z narządów wewnętrznych i łożyska płodu, jak również włosów matki (na badanie włosów ojca nie wyraził zgody właściciel). Profil genetyczny określający kariotyp kociaka był ustalony przez jednoczesne oznaczenie genu SRY na chromosomie Y oraz genu amelogeniny na chromosomie X i Y.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach histopatologicznych łożyska stwierdzono obecność częściowego zaśniadu groniastego. W badaniach molekularnych wykazano obecność dwóch alleli mikrosatelity pochodzenia ojcowskiego i jednego allelu pochodzenia matczynego we wszystkich przeanalizowanych tkankach (nerka, wątroba, mózg, serce i śledziona) izolowanych od martwo urodzonego kociaka. Wyniki potwierdzają istnienie kariotypu triploidalnego wynikającego z fuzji haploidalnej komórki jajowej i dwóch plemników. Dwa matczyne i ojcowskie autosomalne allele mikrosatelity były znalezione w łożysku, sugerując, że jego rozwój obejmował zarówno płodowe, jak i matczyne komponenty. Molekularna analiza określająca płęć płodu dała pozytywny wynik dotyczący obecności ojcowskiego genu SRY, matczynych i ojcowskich genów amelogeniny, jak również odnotowano jeden matczyne i jeden ojcowski allel mikrosatelity chromosomu X. Wyniki potwierdzają, że jeden chromosom był odziedziczony od matki, a dwa chromosomy: X i Y były pochodzenia ojcowskiego. Otrzymane wyniki wskazują, iż anomalie w rozwoju płodu, jak i łożyska były przyczyną urodzenia martwego płodu [4]. Stosowanie genetycznych badań w pourodzeniowej diagnostyce potwierdza znaczną użyteczność tych technik szczególnie w przypadkach, gdzie cytogenetyczna diagnoza jest niewystarczająca albo niemożliwa.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Fukunaga M., 2000. Early partial hydatidiform mole: prevalence, histopathology, DNA ploidy, and persistence rate. *Virchows Arch.*, 437, 180–184.
- [2] Szulman A.E., Surti U., 1978. The syndromes of hydatidiform mole. I. Cytogenetic and morphologic correlations. *Am J Obstet. Gynecol.*, 131, 665–671.
- [3] Petignat P., Billieux M.H., Blouin J.L. et al., 2003. Is genetic analysis useful in the routine management of hydatidiform mole? *Hum. Reprod.*, 18, 243–249.
- [4] Jacobs P.A., Szulman A.E., Funkhouser J. et al., 1982. Human triploidy: relationship between parental origin of the additional haploid complement and development of partial hydatidiform mole. *Ann. Hum. Genet.*, 46, 223–231.



## WPŁYW LPS I TNF- $\alpha$ NA PROFIL WYDZIELANIA PROSTAGLANDYN F2 $\alpha$ I E2 W KOMÓRKACH BŁONY ŚLIZOWEJ MACICY KOTKI – POTENCJALNY MODEL BADAWCZY ZESPOŁU ENDOMETRITIS – PYOMETRA W WARUNKACH *IN VITRO*

### EFFECT OF LPS AND TNF $\alpha$ SECRETION OF PROSTRAGLANDINS F2 $\alpha$ AND E2 IN THE ENDOMETRIAL CELLS OF CAT-POTENTIAL RESEARCH MODEL FOR STUDYING ENDOMETRITIS-PYOMETRA COMPLEX *IN VITRO*

Ewelina Jursza, Dariusz J. Skarżyński, Marta J. Siemieniuch

Polska Akademia Nauk w Olsztynie, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Oddział Biologii Rozrodu, Zakład Immunologii i Patologii Rozrodu, ul. Bydgoska 7, 10-243 Olsztyn, e-mail: m.siemieniuch@pan.olsztyn.pl

Stany zapalne błony śluzowej macicy kotki (endometritis-pyometra complex) obejmują: torbielowaty przerost endometrium, przewlekłe zapalenie błony śluzowej macicy oraz ropomacicze. Etiologia schorzenia jest wieloczynnikowa. Za główną przyczynę schorzenia uznaje się kolonizację endometrium przez bakterie Gram-ujemne (*E. coli*). Lipopolisacharyd (LPS) uwalniany w wyniku rozpadu bakterii Gram-ujemnych łączy się z receptorem typu 4 z grupy Toll-Like Receptors (TLR) występującym m.in. na komórkach błony śluzowej macicy. Związanie się LPS z TLR4 powoduje produkcję i uwalnianie czynnika martwicy nowotworu- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  reguluje/moduluje procesy immunologiczne i endokrynne.

**Cel badań:** Określenie, czy komórki nabłonka i zrębu łącznotkankowego błony śluzowej macicy kotki wydzielają TNF- $\alpha$  w wyniku podania LPS, w warunkach *in vitro*, oraz czy LPS i TNF- $\alpha$  wpływają na profil wydzielania prostaglandyn (PG) w komórkach endometrium.

**Materiał i metody:** Materiał do badań pobrano od 14 kotek domowych o znanej historii rozrodczej, w wieku od 9 miesięcy do 4 lat, podczas zabiegu odjęcia macicy wraz z jajnikami ze względów profilaktycznych, wykonanego za zgodą właściciela. Do izolacji komórek nabłonka i zrębu łącznotkankowego pochodzących z błony śluzowej macicy użyto koktajlu enzymatycznego. Komórki nabłonkowe wyizolowano z macicy kotek będących w rui. Komórki łącznotkankowe wyizolowano z macicy kotek będącej we wczesnej lub środkowej fazie lutealnej. Do doświadczeń użyto komórek po pierwszym pasażu. W doświadczeniu I analizowano wydzielanie TNF- $\alpha$  przez komórki endometrium poddane działaniu LPS metodą ELISpot. W doświadczeniu II zbadano ekspresję białka dla receptorów TNF- $\alpha$  w endometrium metodą immunohistochemiczną (IHC). W doświadczeniu III analizowano wydzielanie PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  i PGE<sub>2</sub> przez komórki endometrium poddane działaniu LPS (dawki: 0, 1, 10, 50 i 100 ng/mL) i/lub TNF- $\alpha$  (dawki: 0, 1, 10 i 100 ng/mL) przez 4 lub 18 godzin. Zawartość PG w medium inkubacyjnym mierzono metodą immunoenzymatyczną (EIA).

**Wyniki i omówienie:** Komórki nabłonka i zrębu łącznotkankowego wydzielały TNF- $\alpha$  w wyniku inkubacji z LPS. Badania immunohistochemiczne potwierdziły obecność TNF- $\alpha$  oraz jego receptorów w błonie śluzowej macicy podczas fazy diestrus, estrus i od kotek z klinicznymi objawami pyometry oraz blokowanych hormonalnie. W komórkach nabłonka i zrębu łącznotkankowego endometrium zaobserwowano wyraźny wzrost wydzielania PGE<sub>2</sub> po 18-godzinnej inkubacji komórek z TNF- $\alpha$  w dawce 10 ng/mL oraz LPS w dawce 50 ng/mL. W komórkach łącznotkankowych oba badane czynniki w wymienionych wyżej dawkach stymulowały wydzielanie PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  podczas 4- i 18-godzinnej inkubacji. Natomiast komórki nabłonkowe odpowiadały wzrostem wydzielania PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  podczas 18-godzinnej inkubacji z LPS w dawce 50 ng/mL. Ekspresję białka dla receptorów TNF- $\alpha$  typu 1 i 2 w endometrium potwierdzono metodą IHC. Hodowle komórek błony śluzowej macicy kotki są wartościowym modelem do dalszych doświadczeń, ponieważ potwierdzają obserwacje prowadzone *in vivo* oraz pozwalają na badanie mechanizmów immunoendokrynologicznych i molekularnych w zespole endometritis-pyometra.

Badania były prowadzone w ramach projektu badawczego MNiSW N303 560740.



## EKSPRESJA CZYNNIKA VON WILLEBRANDA A STOPIEŃ ZŁOŚLIWOŚCI MASTOCYTOMY SKÓRNEJ U PSÓW

### EXPRESSION OF VON WILLEBRAND FACTOR AND THE DEGREE OF MALIGNANCY IN CANINE CUTANEOUS MAST CELL TUMOUR

**Małgorzata Kandefer-Gola, Rafał Ciaputa, Janusz Antoni Madej, Marcin Nowak,  
Stanisław Dzimira**

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii, Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: malgorzata.kandefer@gmail.com*

Guzy z komórek tucznych są jednymi z najczęściej występujących nowotworów skóry u psów. Zazwyczaj są obserwowane u zwierząt w wieku 8–9 lat, bez względu na płeć. Rasami predysponowanymi są bokser, shar-pei, beagle, labrador oraz golden retriever. Należy przy tym zaznaczyć, że u bokserów nowotwór ten charakteryzuje się zwykle niższym stopniem złośliwości. Z kolei u rasy shar-pei guz ten ma tendencję do rozwoju w młodszym wieku i zazwyczaj obserwuje się wyższy stopień złośliwości histologicznej.

**Cel pracy:** Wykazanie korelacji pomiędzy nasileniem procesu angiogenezy a stopniem złośliwości mastocytomy skórnej u psów.

**Materiał i metody.** Materiał do badań stanowią guzy skóry usunięte w trakcie zabiegu chirurgicznego i zaklasyfikowane jako mastocytoma. Każda zmiana jest podzielona na 3 części – każda z nich zostanie poddana innej procedurze. W pierwszej kolejności preparaty są barwione standardową metodą HE, podczas której jest oceniany stopień złośliwości nowotworu (wg WHO). Następna część preparatu jest barwiona z użyciem toluidyny (wyznaczenie ziarnistości w mastocytach). Z trzeciej części są przygotowane skrawki, na których przeprowadzona jest reakcja immunohistochemiczna z wykorzystaniem przeciwciał przeciwko czynnikowi von Willebranda (Polyclonal Rabbit Anti-Human von Willebrand Factor DAKO).

**Wyniki i omówienie:** Badane guzy skóry po barwieniu metodą HE zostały podzielone na 3 grupy – w zależności od stopnia złośliwości histologicznej. Podczas barwienia toluidyną w zależności od stopnia złośliwości nowotworu można wykazać różnice w ilości ziarnistości cytoplazmatycznych. Najsilniej uwidocznione są w mastocytomie I stopnia, najslabiej – prawie niewidoczne – w mastocytomie stopnia III. Ponadto stopień nasilenia angiogenezy może korelować ze stopniem złośliwości nowotworu, gdyż gromadzące się komórki tuczne wydzielają mediatory, dzięki którym stymulowany jest proces angiogenezy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Amorim R.L., Pinczowski P., Neto R.T., Rahal S.C., 2009. Immunohistochemical evaluation of prostaglandin E2 and vascular endothelial growth factor in canine cutaneous mast cell tumours, *Veterinary and Comparative Oncology*, 8, 1, 23–27.
- [2] Preziosi R., Sarli G., Paltrinieri M., 2004. Prognostic Value of Intratumoral Vessel Density in Cutaneous Mast Cell Tumours of the Dog, 130, 2–3, 143–151.
- [3] Passantino L., Passantino G., Cianciotta A., Ribaud M.R., Lo Presti G., Ranieri G., Perillo A., 2008. Expression of proto-oncogene c-kit and correlation with morphological evaluations in canine cutaneous mast cell tumours, 30, 609–621.





## EKSPRESJA ALTERNATYWNEGO TRANSKRYPTU IL-1 $\beta$ W NIEWYDOLNOŚCI SERCA NA TLE ENDOKARDIOZY MITRALNEJ U PSÓW

### EXPRESSION OF INTERLEUKIN-1BETA SPLICE VARIANT IN HEATR INSUFFICIENCY DUE TO MITRAL ENDOCARDIOSIS IN DOGS

Liliana Kiczak<sup>1</sup>, Urszula Paślawska<sup>2</sup>, Jacek Bania<sup>3</sup>, Ewa Wałęcka<sup>3</sup>, Izabela Sambor<sup>1</sup>, Tadeusz Stefaniak<sup>4</sup>, Piotr Dziegieł<sup>5</sup>, Maciej Zacharski<sup>1</sup>, Ilona Rybińska<sup>6</sup>, Alicja Tomaszek<sup>6</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Biochemii, Farmakologii i Toksykologii, Zakład Biochemii, <sup>2</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, <sup>3</sup>Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, <sup>4</sup>Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, Akademia Medyczna we Wrocławiu, <sup>5</sup>Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, <sup>6</sup>Wydział Nauk o Zdrowiu, Katedra Chorób Serca, e-mail: liliana.kiczak@up.wroc.pl

Niewydolność serca u psów stanowi istotny problem kliniczny, ponieważ średnio 10% pacjentów zgłaszających się do lekarza weterynarii stanowią psy z tą chorobą. Najczęstszą przyczyną niewydolności serca psów jest śluzakowate zwyrodnienie (endokardioza) zastawki mitralnej. W tkance mięśnia sercowego psów z endokardiozą mitralną zaobserwowano podwyższoną ekspresję kluczowej cytokiny prozapalnej – interleukiny 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), nie zaobserwowano natomiast nacieków zapalnych [1]. Jednocześnie w miokardium psów z endokardiozą stwierdzono obecność produktu alternatywnego składowania transkryptu genu dla IL-1 $\beta$ , nazwanego sv1 IL-1 $\beta$ .

**Cel pracy:** Sprawdzenie, czy sv1 IL-1 $\beta$  występuje w innych tkankach (płuca, nerki, wątroba), oraz czy ulega translacji.

**Materiał i metody:** Zbadano nerki, wątrobę, płuca z 20 psów bez choroby serca i 35 psów z krańcową niewydolnością serca spowodowaną zwyrodnieniem zastawki dwudzielnej. Ekspresję sv1 IL-1 $\beta$  analizowano za pomocą qPCR. Ekspresję na poziomie białka oceniano za pomocą Western Blot oraz immunohistochemii.

**Wyniki i omówienie:** Wykazano, że produkt alternatywnego składowania transkryptu genu dla IL-1 $\beta$  (sv1 IL-1) jest obecny w nerkach, wątrobie i płucach psów z grupy kontrolnej i psów z endokardiozą mitralną. Jednak poziom tego transkryptu jest około 5 razy wyższy w nerkach i wątrobie psów z niewydolnością serca, w porównaniu z psami z grupy kontrolnej, natomiast w płucach około 2 razy. Wykazano, że transkrypt sv1 IL-1 $\beta$  ulegają translacji, a profil ilości wykrywanych w Western blot białek pokrywa się z poziomem RNA. Białko kodowane przez sv1 IL-1 $\beta$  jest wytwarzane przez hepatocyty (cytoplazma), komórki nabłonka i mięśni gładkich w oskrzelikach (cytoplazma, jądro komórkowe), w pneumocytach i makrofagach pęcherzyków płucnych (cytoplazma, jądro komórkowe). Poziom produktu alternatywnego składowania transkryptu genu dla IL-1 $\beta$ , jak i białka kodowanego przez ten transkrypt jest podwyższony w wątrobach, nerkach i płucach u psów z endokardiozą mitralną, w porównaniu z psami z grupy kontrolnej. Jako że niewydolności serca towarzyszy patologia takich narządów, jak nerki, wątroba i płuca, zwiększony poziom sv1 IL-1 $\beta$  w tych organach może świadczyć o tym, że bierze on udział w patogenezie niewydolności serca. Ponieważ proces alternatywnego składowania pozwala na wytwarzanie z jednego prekursorowego mRNA różnych izoform danego białka, często o przeciwnych aktywnościach, wydaje się prawdopodobne, że białko kodowane przez transkrypt sv1 IL-1 $\beta$  może hipotetycznie modulować rozwój stanu zapalnego.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kiczak L., Paślawska U., Bania J., Ugorski M., Sambor I., Kochman A., Blach J., Chelmonska-Soyta A., 2008. Increased expression of interleukin-1beta and its novel splice variant in canine hearts with volume overload. *Cytokine*, 44, 352–360.





## ZASTOSOWANIE KAMERY WŁASNEJ KOSTRUKCJI Z KOMPUTEROWĄ ARCHIWIZACJĄ DO BADANIA CHOROÓB DNA OCZU O PODŁOŻU GENETYCZNYM U PSÓW I KOTÓW

### THE USE OF THE CAMERA OF ITS OWN DESIGN WITH COMPUTER ARCHIVING TO THE STUDY OF THE EYES FUNDUS DISEASES OF THE GENETIC ORIGIN IN DOGS AND CATS

Zdzisław Kiełbowicz, Maciej Kiełbowicz

Uniwersytet Przyrodniczego we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii,  
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: [zdzislaw.kielbowicz@up.wroc.pl](mailto:zdzislaw.kielbowicz@up.wroc.pl)

Wizualizacja dna oczu u zwierząt z archiwizacją obrazu morfologicznego dysku nerwu wzrokowego, naczyń krwionośnych żylnych i tętniczych, błony odblaskowej i obrazu intensywności refleksu świetlnego siatkówki ma podstawowe znaczenie w diagnostyce okulistycznej. Choroby dna oczu o podłożu genetycznym rozwijające się wraz z rozwojem osobniczym zwierzęcia najczęściej w wieku dorosłym prowadzą do ślepoty. Brak możliwości ich leczenia sprawia, że jedyną metodą postępowania jest eliminacja osobników chorych lub nosicieli z hodowli.

**Cel pracy:** Ocena możliwości zastosowania klinicznego prototypu urządzenia składającego się z fundus kamery zintegrowanej z mikroskopem operacyjnym i możliwością archiwizacji zdjęć fotograficznych w komputerze.

**Materiał i metody:** Urządzenie własnej konstrukcji składa się z kamery do rejestracji obrazów i filmów kolorowych z dna oczu psów i kotów. Jest ona podłączona do części optycznej z możliwością regulacji wielkości obserwowanego obrazu. Cały ten moduł zawieszony jest na uchylnym ramieniu i zamocowany na ścianie z możliwością precyzyjnego przybliżenia części optycznej w każdej pozycji przestrzennej do oka badanego zwierzęcia. Obrazy dna oczu przekazywane są kablami do komputera, który w specjalnym utworzonym programie rejestruje je i archiwizuje.

**Wyniki i omówienie:** Fundus kamera własnej konstrukcji użytkowana jest od 10 lat do badania oraz diagnostyki chorób dziedzicznych dna oczu u psów i kotów takich jak: progresywna atrofia siatkówki, dystrofia nabłonka barwnikowego siatkówki, dysplazja czopków i pręcików, anomalia oczu collie, zapalenie naczyniówki i siatkówki, odwarstwienie siatkówki, zespół niedobory tauryny. Badanie dna oczu fundus kamerą umożliwia obserwację zmian chorobowych na dnie oczu u badanych zwierząt w dłuższym okresie i określenie dynamiki rozwoju zmian patologicznych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Maggs D.J., Miller P.E., Ofri R., 2008. Slater's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology. Saunders Elsevier.
- [2] Dziezyc J., Millichamp N.J., 2004. Color Atlas Canine and Feline Ophthalmology. Elsevier Saunders.



## ZMIANY WTÓRNE TOWARZYSZĄCE ZWICHNIĘCIOM SOCZEWKI U PSÓW

### COMPLICATIONS ASSOCIATED WITH LENS DISLOCATION IN DOGS

Maciej Kiełbowicz, Zdzisław Kiełbowicz, Joanna Paczuszka

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii,  
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: phocoena@interia.pl

Zwichnięcie soczewki to całkowite zerwanie obwódki rzęskowej utrzymującej kontakt pomiędzy soczewką i ciałem rzęskowym [1, 2]. Może ono występować zarówno jedno-, jak i obustronnie. Na skutek tego dochodzi do przemieszczenia się soczewki w kierunku ciała szklistego lub do komory przedniej oka [3]. Zwichnięcie soczewki do komory przedniej wskutek zmian refrakcji układu optycznego bardzo utrudnia bądź uniemożliwia widzenie [4]. Ponadto soczewka kontaktując się z nabłonkiem tylnym rogówki, prowadzi do jej uszkodzenia, dekompensacji, obrzęku i waskularyzacji rogówki [3].

**Cel badań:** Określenie częstotliwości występowania zmian wtórnych towarzyszących poszczególnym rodzajom zwichnięć soczewki u psów oraz najczęstsze objawy i powikłania związane z brakiem leczenia.

**Materiały i metody:** Badanie przeprowadzono na podstawie 40 przypadków psów, u których zdiagnozowano zwichnięcie soczewki. Wszystkie zwierzęta były pacjentami Katedry i Kliniki Chirurgii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu w latach 2008–2011. Diagnostykę przeprowadzano za pomocą oftalmoskopu i lampy szczelinowej. Przed badaniem oczy pacjenta były zakrapiane tropikamidem w celu rozszerzenia źrenic. Badaniem ostatecznie potwierdzającym umiejscowienie się soczewki w obrębie gałki ocznej było badanie ultrasonograficzne.

**Wyniki i omówienie:** W 31 przypadkach zwichnięcie dotyczyło przemieszczenia się soczewki do komory przedniej. W pięciu przypadkach zdiagnozowano nadwichnięcie soczewki. W czterech przypadkach doszło do zwichnięcia tylnego, czyli dyslokacji soczewki do komory ciała szklistego.

W zależności od rodzaju zwichnięcia zmiany wtórne pojawiały się z różną częstotliwością. Najczęściej do powikłań dochodziło przy zwichnięciu soczewki z przemieszczeniem jej do komory przedniej. Poza utratą wzroku dochodziło do zapalenia błony naczyniowej oka, wtórnej jaskry, obrzęku rogówki oraz jej waskularyzacji – co wynikało z uszkodzenia śródbłonna rogówki przez soczewkę.

Przy podwichnięciu soczewki stwierdzano znaczne upośledzenie zmysłu widzenia. Najczęściej nie dochodzi do wtórnych powikłań. Istnieje jednak ryzyko przerwania całej obwódki rzęskowej, doprowadzając do pełnego zwichnięcia soczewki. Przy zwichnięciu soczewki do komory ciała szklistego dochodzi do utraty zdolności prawidłowego widzenia. Najczęstszymi powikłaniami jest zapalenie błony naczyniowej oka oraz wtórna jaskra. W badaniu klinicznym często trudno jest jednoznacznie potwierdzić lokalizację soczewki w komorze ciała szklistego.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Petersen-Jones S., Cristin S., 2008. BSAVA Manual of Small Animal Ophthalmology, BSAVA.
- [2] Madany J., 2001. Zmiany soczewki oka u małych zwierząt. *Mag. Wet.*, 10, 16–20.
- [3] Kiełbowicz Z., 2005. Współczesne metody postępowania chirurgicznego przy dyslokacji soczewki u psów i kotów. Konferencja: Okulistyka – nagłe wypadki. PSLWMZ, Lublin.
- [4] Kiełbowicz Z., 2000. Surgical treatment of lens dislocation in dogs. *Med. Wet.*, 11, 718–722



## EKSPRESJA DESMINY JAKO WSKAŹNIK STOPNIA NIEWYDOLNOŚCI SERCA W PRZEBIEGU KARDIOMIOPATII ROZSTRZENIOWEJ U PSÓW

### EXPRESSION OF DESMIN AS AN INDICATOR OF HEART FAILURE IN THE COURSE OF DILATED CARDIOMYOPATHY IN DOGS

Urszula Kotowicz-Szatkowska

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Zakład Chorób Wewnętrznych Zwierząt Towarzystwujących, 20-612 Lublin, ul. Głęboka 30

Kardiomiopatia rozstrzeniowa (DCM), obok choroby zwyrodnieniowej zastawki dwudzielnej, jest najczęściej spotykaną chorobą serca u psów. Jej rozwój i przebieg można oceniać według klasyfikacji NYHA, standardowymi metodami klinicznymi. W jej przebiegu dotyczy to objawowej fazy choroby przy występowaniu utrwalonych, organicznych zmian w sercu (III–IV stopień wg NYHA), a nie w fazach początkowych, bez objawów klinicznych (I–II stopień wg NYHA). Możliwości terapeutyczne po rozpoznaniu faz późnych są mało efektywne, rokowanie jest niepomyślne i czas przeżycia krótki. Wczesne stadia choroby pozostają poza możliwościami aktualnej diagnostyki i skutecznych działań prewencyjnych.

W celu poprawy diagnostyki DCM u ludzi stosuje się m.in. markery biochemiczne. Ułatwiają one wykrywanie bezobjawowych faz choroby, ale ich oznaczanie u psów obarczone jest wadami. Zmiany w ich dynamice są krótkotrwałe, nieswoiste i koszty oznaczeń są wysokie. Trwają zatem poszukiwania innych wskaźników mogących mieć wpływ na wczesną diagnostykę. Zainteresowanie wzbudza m.in. desmina, jedno z białek cytoszkieletu komórki mięśnia sercowego. Kardiologia weterynaryjna dotychczas nie zajmowała się tym zagadnieniem. Wstępne dane wskazują na dużą analogię ekspresji desminy w mięśniu sercowym ludzi i zwierząt laboratoryjnych. Podjęte badania mają wykazać, czy celowa i uzasadniona jest próba oznaczania desminy w diagnostyce wczesnych etapów kardiomiopatii rozstrzeniowej u psów.

**Cel badań:** Ocena ekspresji desminy w komórkach mięśnia sercowego psów chorych na kardiomiopatię rozstrzeniową, w różnych stadiach niewydolności serca.

**Materiał i metody:** Badania wykonano u 14 psów w wieku 7.–10. lat z rozpoznaną klinicznie kardiomiopatią rozstrzeniową, które obserwowano do czasu ich śmierci. Było to 8 samców i 6 samic, w tym: 6 mieszaneńców i 8 psów ras średnich i dużych.

Materiał do badań pobierano śródsekcyjnie w czasie nieprzekraczającym 6 godzin od zejścia śmiertelnego. Wycinki pobierano ze stałych miejsc: ściany lewej i prawej komory, przegrody międzykomorowej oraz zmienionych płatków zastawek. Preparaty oceniano histologicznie po barwieniu HE oraz określano aktywność desminy metodą immunohistochemiczną.

Grupę kontrolną stanowiło 10 psów, w różnym wieku, klinicznie zdrowych, których śmierć niezwiązana była z chorobami serca. Badania są kontynuowane.

#### Wyniki:

1. Wzrost stężenia desminy w mniej zaawansowanych fazach choroby, I i II stopień wg NYHA, i spadek jej stężenia w objawowych fazach choroby, III i IV stopień wg NYHA.
2. Istnieją swoiste powiązania pomiędzy zmianami histologicznymi w komórkach kardiomiocytów a obrazem klinicznym niewydolności skurczowej serca.
3. Istnieje związek pomiędzy zmienną ekspresją desminy a zmianami w wymiarach lewej komory serca oraz jej zaburzoną funkcją skurczową ocenianą metodą USG.



## PRZYPADEK NIEDOKRWISTOŚCI MEGALOBLASTYCZNEJ U 2-LETNIEJ SUKI

## MEGALOBLASTIC ANEMIA IN TWO YEARS OLD DOG FEMALE

Wioletta Krystkiewicz<sup>1</sup>, Sylwia Lew-Kojrys<sup>1</sup>, Elżbieta Mikulska-Skupień<sup>2</sup>, Anna Snarska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn, e-mail: s.lew@uwm.edu.pl

Niedokrwistość megaloblastyczna jest szczególną postacią niedokrwistości makrocytowych. Choroba charakteryzuje się zaburzeniami dojrzewania jąder komórkowych, powstawaniem dużych postaci komórkowych (megalocyty i megaloblasty) i nieefektywną erytropoezą. Przyczyną choroby jest upośledzenie syntezy DNA spowodowane niedoborem lub nieprawidłową przemianą witaminy B<sub>12</sub> lub/i kwasu foliowego [2, 3].

**Materiał i metody:** Opiswany przypadek dotyczy 2-letniej suki rasy mieszanej. W wyniku badania klinicznego stwierdzono ogólne osłabienie, apatię, porcelanowo-białe spojówki, bledność błon śluzowych, biegunkę, wymioty oraz zaburzenia pracy serca. Wykonano badania laboratoryjne: pełną morfologię krwi obwodowej z oznaczeniem liczby retikulocytów, ocenę cytologiczną rozmazów krwi obwodowej, ocenę cytologiczną rozmazów szpiku kostnego, stężenie żelaza, białka całkowitego, albuminy, witaminy B<sub>12</sub> i kwasu foliowego oraz aktywność LDH w surowicy krwi.

**Wyniki i omówienie:** W ocenie morfologii krwi obwodowej stwierdzono spadek liczby erytrocytów ( $4,03 \cdot 10^6/\mu\text{l}$ ), spadek stężenia hemoglobiny (6,8 g/dl) oraz niski hematokryt (15,6%) w stosunku do wartości referencyjnych właściwych dla gatunku. Znacznie wzrosła średnia objętość krwinki czerwonej (MCV 82,1 fl), a średnia masa hemoglobiny utrzymała się w zakresie wartości referencyjnych (MCH 23,6 pg).

W ocenie krwi obwodowej stwierdzono owalne megalocyty, megaloblasty na różnych stadiach rozwojowych. Charakterystyczny obraz to granulocyty olbrzymie z wielopłatowością jąder, agregacja płytek krwi oraz płytki olbrzymie.

Obraz szpiku kostnego bogatokomórkowy z megaloblastyczną odnową układu czerwonokrwinkowego i znacznie obniżonym stosunkiem M : E wynoszącym 1,8:1,0 przy wartościach prawidłowych dla gatunku 0,9:1,76 [1]. W układzie erytropoetycznym przeważały promegaloblasty i megaloblasty zasadochłonne, można zauważyć dość częsty obraz postaci podziałowych. W układzie granulopoetycznym postaci komórkowe olbrzymie, szczególnie metamielocyty i formy pałeczkowate.

W badaniach biochemicznych stwierdzono znaczne obniżenie stężenia witaminy B<sub>12</sub> i kwasu foliowego a także białka całkowitego i albuminy. Na skutek braku wykorzystania żelaza przez szpik (2) zaobserwowano wysoki poziom tego parametru w surowicy (69,9  $\mu\text{mol/l}$ ), wzrosła również aktywność LDH.

U suki zastosowano suplementację preparatami kwasu foliowego i witaminy B<sub>12</sub>. Po czterech tygodniach od rozpoczęcia leczenia wykonano ponowne badanie morfologii krwi. W badaniu stwierdzono nieznaczny wzrost wartości MCV (72,1 fl), pozostałe parametry utrzymywały się w granicach wartości referencyjnych właściwych dla gatunku.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Harvey W.J., 2001. Atlas of Veterinary Hematology. Blood and Bone Marrow of Domestic Animals, 114.
- [2] Krzemińska-Ławkowicz I., 1993. Atlas hematologii klinicznej str. 47–48.
- [3] Mischke R., 2003. Praktyczna hematologia psów i kotów, 3.



## WPLYW ORCHIEKTOMII NA STĘŻENIE T3, T4 I FT4 ORAZ BUDOWĘ HISTOLOGICZNĄ TARCZYCY PSÓW – WYNIKI WSTĘPNE

### THE INFLUENCE OF ORCHIECTOMY ON SERUM CONCENTRATIONS OF T3, T4, FT4 AND HISTOLOGICAL STRUCTURE OF THYROID GLAND IN DOGS – PRELIMINARY RESULTS

Alicja Krzyżewska-Młodawska, Andrzej Max

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, Pracownia Rozrodu Małych Zwierząt, e-mail: alicja-krzyzewska@wp.pl

Orchiektomia jest podstawowym zabiegiem antykoncepcji chirurgicznej samców. Masowość zabiegów oraz ich nieodwracalne skutki skłaniają do zastanowienia się nad ich bezpieczeństwem. Istnieją fizjologiczne powiązania między tarczycą a układem rozrodczym. Wykazano wpływ nadmiaru lub niedoboru hormonów tarczycowych na czynność gonad. Mniej poznane są zależności odwrotne, a wśród nich wpływ braku gonad i ich hormonów na czynność oraz stan patofizjologiczny tarczycy.

**Cel pracy:** Ustalenie wpływu kastracji na wydzielanie wewnętrzne oraz budowę histologiczną tarczycy psów samców.

**Materiał i metody:** Stężenia hormonów tarczycy: tyroksyny (T4), trójiodotyroniny (T3) i wolnej tyroksyny (fT4) oznaczono w surowicy za pomocą ludzkich testów radioimmunologicznych RIA-gnos Cisbio Bioassays u 34 psów niekastrowanych i 34 kastrowanych. W kolejnym etapie pobrano sekcje tarczycy od 11 psów niekastrowanych i 8 kastrowanych poddanych wcześniej eutanazji z innych przyczyn. Preparaty utrwalano w zbuforowanym 10% roztworze formaliny, a następnie zatopiono w parafinie. Pokrojone skrawki zabarwiono hematoksyliną-eożyną i oceniano pod mikroskopem Nikon Eclips 80i DS-Ri1. Pęcherzyki tarczycy liczono w pięciu polach widzenia w każdym preparacie. Równocześnie w każdym polu widzenia mierzono wysokość 20 komórek nabłonka płaskiego i 20 sześciennego pęcherzyków tarczycy.

**Wyniki i omówienie:** Średnie stężenie T4 zarówno u psów niekastrowanych, jak i kastrowanych wyniosło 17,31 ng/ml, zatem nie różniło się. Dwuczynnikowa analiza wariancji wykazała natomiast statystycznie istotne różnice między niekastrowanymi a kastrowanymi psami w stężeniach T3 i fT4. Średnia wartość T3 wyniosła dla psów niekastrowanych 0,50±0,30 ng/ml, natomiast 0,65±0,22 ng/ml dla kastrowanych. Średnie wartości fT4 wyniosły odpowiednio: 14,78±4,52 i 11,25±4,96 pg/ml. W badaniu histologicznym zauważono zwiększoną częstość występowania nabłonka płaskiego w pęcherzykach tarczycy u psów kastrowanych w porównaniu z psami niekastrowanymi. Ponadto średnia wysokość zarówno nabłonka płaskiego (2,89 μm), jak i sześciennego (5,64 μm) była niższa w nabłonku tarczyc psów kastrowanych w porównaniu z 3,07 i 6,25 μm odpowiednio u psów niekastrowanych. W piśmiennictwie dane odnośnie wpływu kastracji na stan tarczycy są sprzeczne. W jednym dużym badaniu epidemiologicznym wykazano większą częstość występowania hipotyreoidyzmu u psów kastrowanych w porównaniu z niekastrowanymi o 30% [2], podczas gdy w innym również stwierdzono zwiększone ryzyko wystąpienia niedoczynności tarczycy u zwierząt kastrowanych, jednak prewalencja wynosiła tylko 0,2% [3]. Z kolei obserwacje przeprowadzone u psów rasy beagle nie potwierdziły wpływu kastracji na poziom T4 w surowicy [1]. W niniejszym doświadczeniu mniejsze stężenie fT4 oraz obraz histologiczny tarczycy psów kastrowanych sugerują spadek aktywności gruczołu tarczowego tych zwierząt w porównaniu z psami niekastrowanymi. Wyniki te mogą wskazywać na tendencję psów kastrowanych do hipotyreoidyzmu, jeszcze bez zaznaczonych objawów klinicznych choroby.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Günzel-Apel A.R. et al., 2009. Effects of gonadectomy on prolactin and LH secretion and the pituitary – thyroid axis in male dogs, *Theriogenology*, 71, 746–753.
- [2] Milne K.L., Hayes H.M. Jr, 1981. Epidemiologic features of canine hypothyroidism, *Cornell Vet.* 71, 3–14.
- [3] Panciera D.L., 1994. Hypothyroidism in dogs: 66 cases (1987–1992), *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 204, 761–767.





## SYSTEM SYDNEY W OCENIE MAKRO- I MIKROSTRUKTURY BŁONY ŚLIZOWEJ ŻOŁĄDKA PSÓW

### SYDNEY SYSTEM IN EVALUATION OF THE MACRO-AND MICROSTRUCTURE OF THE GASTRIC MUCOSA OF DOGS

Krzysztof Kubiak<sup>1</sup>, Marcin Jankowski<sup>1</sup>, Jolanta Spużak<sup>1</sup>, Maciej Grzegory<sup>1</sup>,  
Kamila Glińska-Suchocka<sup>1</sup>, Agnieszka Hałoń<sup>2</sup>, Józef Nicpoń<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław,

<sup>2</sup>Akademia Medyczna we Wrocławiu, Wydział Lekarski, Katedra Patomorfologii i Zakład Patomorfologii, ul. Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław, e-mail: krzysztof.kubiak@up.wroc.pl

Do najczęściej spotykanych zmian w błonie śluzowej żołądka u psów należą zapalenia [2]. Aktualnie do oceny zmian zapalnych tego narządu w medycynie człowieka stosowany jest system Sydney. Składają się na niego opis endoskopowy i opis histologiczny. W opisie endoskopowym określone są: zasięg zmian zapalnych oraz kategoria zapalenia. Opis histologiczny zawiera część etiologiczną, topograficzną i morfologiczną [2, 3].

**Cel pracy:** Przedstawienie własnych doświadczeń związanych z wykorzystaniem systemu Sydney w rozpoznawaniu i opisywaniu zapaleń żołądka u psów.

**Materiał i metody:** Badaniami objęto 20 psów, różnej rasy, wielkości i płci w wieku 1–12 lat, u których podczas gastroskopii, w ocenie makroskopowej, stwierdzono cechy zapalenia żołądka. U tych zwierząt z trzonu i części przedodźwiernikowej żołądka pobrano wycinki do badań histopatologicznych. Preparaty histopatologiczne barwiono hematoksyliną i eozyną. W celu identyfikacji bakterii z rodzaju *Helicobacter* wykonywano także barwienie zmodyfikowaną metodą Giemzy. W ocenie mikroskopowej zapalenie błony śluzowej trzonu i części odźwiernikowej oceniano stosując część morfologiczną opisu histologicznego systemu Sydney. Klasyfikacja ta obejmowała ocenę: stopnia zaawansowania zapalenia przewlekłego – intensywność (ilość komórek jednojądrowych), jego aktywności (gęstość nacieku z granulocytów obojętnochłonnych), zaniku (ilość gruczołów żołądkowych), obecności metaplasji jelitowej, stopnia kolonizacji błony śluzowej żołądka przez drobnoustroje z rodzaju *Helicobacter*.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie oceny makroskopowej błony śluzowej żołądka, zgodnie z endoskopowymi kategoriami skali Sydney, rozpoznano zapalenie żołądka o charakterze: rumieniowym (10 psów), refluksowym (6 psów), krwotocznym [2], zanikowym [1], przerostowym [1], umiejscowione głównie w trzonie i części odźwiernikowej żołądka. Opierając się na opisie histologicznym systemu Sydney zapalenie żołądka u wszystkich psów sklasyfikowano jako przewlekłe. Najczęstszym rodzajem zapalenia było *gastritis chronica activa medii gradus sine neoplasmate*.

Przeprowadzone badania potwierdziły dotychczasowe obserwacje własne, oparte na wieloletnim doświadczeniu oraz opinie innych autorów [1], że ocena endoskopowa błony śluzowej żołądka powinna być rozpatrywana łącznie z oceną histopatologiczną pobranych bioptatów. Takie postępowanie precyzuje diagnozę. System Sydney oceny zmian zapalnych błony śluzowej żołądka z powodzeniem może być stosowany w gastroenterologii psów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Budzyńska A., Rybicka J., 2001. Współczesne spojrzenie na przewlekłe zapalenie żołądka. *Gastroenterologia Polska*, 8 (2), 165–171.
- [2] Niemand H.G., Suter P.F., 2003. *Praktyka kliniczna – psy*. Galaktyka.
- [3] Khakoo S.I., Lobo A.J., Shepherd N.A., Wilkinson S.P., 1994. Histological assessment of the Sydney classification of endoscopic gastritis. *Gut*, 35, 1172–1175.



## OCENA WPŁYWU LECYTINY JAJA KURZEGO NA PARAMETRY MORFOLOGICZNE I BIOCHEMICZNE KRWI PSÓW ZDROWYCH I Z ZABURZONYM PROFILEM LIPIDOWYM

### ESTIMATION OF THE OVO-LECITHIN INFLUENCE ON MORPHOLOGIC AND BIOCHEMIC BLOOD PARAMETERS IN HEALTHY DOGS AND DOGS WITH ABNORMALITIES OF LIPID PROFILES

Agnieszka Kurosad, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: agnieszka.kurosad@up.wroc.pl

Lecytyna, fosfatydylocholina to naturalne substancje stanowiące składnik wszystkich błon biologicznych komórek zwierzęcych i roślinnych. Lecytyna wykazuje działanie antyoksydacyjne w stosunku do komórek organizmu, zwiększa spalanie tłuszczu oraz wykazuje efekt kardioprotekcyjny. Ostatnie doniesienia sugerują jej udział w procesie adipogenezy, lipogenezy oraz gromadzenia tłuszczu w wątrobie [1]. W medycynie człowieka wykorzystuje się również emulgujące właściwości lecytyny (sojowej) w preparatach obniżających poziom cholesterolu.

**Cel pracy:** Ocena wpływu lecytyny, pochodzącej z jaja kurzego, na parametry morfologiczne i biochemiczne krwi psów zdrowych i z zaburzoną profilem lipidowym.

**Materiał i metody:** Badaniami objęto 40 psów, różnych ras, wielkości i płci od 1 do 12 lat. Na podstawie przeprowadzonych badań morfologicznych i biochemicznych krwi psy podzielono na 2 grupy: zdrowe i z zaburzoną profilem lipidowym. W obu grupach utworzono podgrupy psów w zależności od wielkości rasy: małe (do 10 kg), średnie (>10–20 kg) i duże (>20 kg). Lecyтынę uzyskaną z jaja kurzego podawano doustnie w dawkach liczonych na cholinę. W grupie psów zdrowych podawano lecyтынę w 3 różnych dawkach: 5 x wartość rekomendowana, 2,5 x wartość rekomendowana oraz 1 x wartość rekomendowana. Każdą dawkę stosowano przez okres 2 tygodni, po czym wykonywano kontrolne badania krwi. Wartość rekomendowana odnosi się do wartości dziennego zapotrzebowania psa na cholinę i wynosi 25 mg/kg m.c. W grupie psów z zaburzoną profilem lipidowym, korzystając z wyników wpływu lecytyny na parametry morfologiczne i biochemiczne uzyskane od psów zdrowych oraz wstępnych badaniach na pacjentach, wprowadzono zaledwie 2 dawki lecytyny: 2 x wartość rekomendowaną oraz 1 x wartość rekomendowaną jako wartość dziennego zapotrzebowania bytowego na cholinę. Każdą dawkę stosowano przez tydzień, po czym wykonywano badania kontrolne krwi. Analizę krwi wykonano na aparatach: Konelab Prim 30i oraz LaserCyte.

**Wyniki i omówienie:** Celem przeprowadzonego badania było określenie wpływu lecytyny z jaja kurzego na parametry morfologiczne oraz biochemiczne krwi psów zdrowych i z zaburzoną profilem lipidowym. W przypadku psów zdrowych dokonano oceny wpływu lecytyny na powyższe parametry z oszacowaniem wpływu wielkości dawki lecytyny oraz czasu jej podawania, co było istotne do jej zastosowania u psów z zaburzoną profilem lipidowym. W przypadku psów zdrowych jedynie przy zastosowaniu 5 x wartości rekomendowanej w przeliczeniu na cholinę doszło do zmian w profilu lipidowym bez wpływu na pozostałe parametry morfologiczne i biochemiczne krwi psów. Natomiast w przypadku psów z zaburzoną profilem lipidowym jej wpływ na powyższe parametry był zależny od choroby podstawowej. Zauważono jednak obniżenie poziomu cholesterolu i/lub TG oraz zmiany w poziomie HDL i LDL u psów, którym podawano lecyтынę z jaja kurzego. Niemniej jednak w celu oszacowania wpływu lecytyny z jaja kurzego na profil lipidowy psów chorych wymagane są dalsze, dokładniejsze badania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Zhang Y., Huang Ch., Sheng X., Gong Z., Zang Y.Q., 2009. Lecithin promotes adipocyte differentiation and hepatic lipid accumulation. *International Journal of Molecular Medicine*, 23, 449–454.

Praca przygotowana w związku z projektem „Innowacyjne technologie produkcji biopreparatów na bazie nowej generacji jaj (OVOCURA)” Współfinansowany przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, 2007–2013.



## LITOTRYPSJA ULTRADŹWIĘKOWA W LECZENIU KAMICY UKŁADU MOCZOWEGO U PSÓW

### LITHOTRYPSEY ULTRASOUND IN THE TREATMENT OF URETEROLITHIASIS IN DOG

Sylwia Lew-Kojrys<sup>1</sup>, Elżbieta Mikulska-Skupień<sup>2</sup>, Wioletta Krystkiewicz<sup>1</sup>, Anna Snarska<sup>1</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn, e-mail:s.lew@uwm.edu.pl,

<sup>2</sup>Katedra Epizootiologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn

Kamica moczowa jest jedną z najczęstszych przyczyn dysurii u psów. Kamienie moczowe najczęściej lokalizują się w pęcherzu, następnie cewce moczowej, nerkach i moczowodach. Ze względu na skład mineralny dzielimy je na kamienie struwitowe, szczawianowo-wapniowe, cystynowe czy moczanowe. Niestety, rozpuszczenie większości kamieni za pomocą leczenia farmaceutycznego czy dietetycznego nie jest możliwe, pozostaje chirurgiczne usunięcie kamienia. Kamienie moczowe można również usuwać za pomocą litotryptora, powodując ich rozbicie.

**Cel badań:** Zmniejszenie częstotliwości wykonywania zabiegów cystotomii i usunięcie kamieni metodą endoskopową po wcześniejszym ich rozdrobnieniu.

**Materiał i metody:** Litotrypsja była wykonywana na pacjentach Kliniki Chorób Wewnętrznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Olsztynie. Pacjenci trafiali do nas z objawami utrudnionego oddawania moczu lub nawracającymi zakażeniami układu moczowego. Rozpoznanie kamicy było stawiane na podstawie badań ultrasonograficznych oraz radiologicznych. Wykonywano również badania laboratoryjne krwi i moczu. Zabieg rozbicia kamieni wykonywano za pomocą zestawu do litotrypsji ultradźwiękowej CALCUSON 200-240 VAC, 50/60 Hz z użyciem ureteroskopu 9,5 Fr., dł. 34 cm, z kanałem instrumentalnym 6 Fr. Pacjentów do zabiegu znieczulano.

**Wyniki i omówienie:** Możliwość rozbicia kamienia w układzie moczowym zależy od wielu czynników, tj. masa ciała, płci zwierzęcia, lokalizacji oraz wielkości kamienia. Rozbicie kamieni w drogach wyprowadzających mocz za pomocą litotrypsji skraca czas znieczulenia w porównaniu z cystotomią oraz ze względu na małą inwazyjność zabiegu pacjenci po wybudzeniu z narkozy nie wymagają opieki. Rozbicie kamieni w świetle cewki moczowej zmniejsza ryzyko powstawania zrostów i zwężeń cewki po zabiegach uretrotomii oraz zmniejsza konieczność wykonywania zabiegów uretrotomii. Niestety, ze względu na to, że użycie litotryptora ultradźwiękowego wymaga sztywnego URSu, wykonanie zabiegów usunięcia kamieni z pęcherza moczowego u psów samców możliwe jest wyłącznie przez powłoki brzuszne.

Litotrypsja jako mało inwazyjna metoda może być alternatywą dla chirurgicznego usunięcia kamieni moczowych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bevan J.M., Lulich J.P., Albasan H., Osborne C.A., Comparison of laser lithotripsy and cystotomy for the management of dogs with urolithiasis. J. Am. Vet. Med. Assoc., 2009 May 15, 234 (10), 1286–1294.
- [2] Lulich J.P., Osborne C.A., Albasan H., Monga M., Bevan J.M., Efficacy and safety of laser lithotripsy in fragmentation of urocystoliths and urethroliths for removal in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., 2009 May 15, 234 (10), 1279–1285.



## PRZYPADEK OPISTORCHOZY U KOTA

## OPISTHORCHIASIS IN A CAT

Sylwia Lew-Kojrys<sup>1</sup>, Elżbieta Mikulska-Skupień<sup>2</sup>, Mirosław M. Michalski<sup>3</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn, e-mail: s.lew@uwm.edu.pl,

<sup>2</sup>Katedra Epizootiologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn, e-mail: skupien@uwm.edu.pl,

<sup>3</sup>Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn, e-mail: michmm@uwm.edu.pl

*Opisthorchis felineus* – przywra kocia była zwykle stwierdzana w Polsce w okolicach Warszawy oraz na terenie Warmii i Mazur. Jej żywicielem pośrednim są ślimaki słodkowodne z rodzaju *Bithynia* i ryby słodkowodne (najczęściej z rodziny karpiowatych). Koty zarażają się, zjadając surowe lub niedogotowane mięso ryb, zawierające postacie inwazyjne – metacerkarie, które po uwolnieniu się z cyst w przewodzie pokarmowym wędrują do przewodów żółciowych wątroby. Okres inwazji trwa lata, a sama przywra osiąga od 7 do 12 mm długości. Obecność dorosłych przywr w przewodach żółciowych może prowadzić do powstawania torbieli, nieżyłowego zapalenia ścian przewodów oraz rozrostu nabłonka, co powoduje brodawkowate lub gruczolakowate zmiany. Leczeniem z wyboru jest prazikwantel, jeżeli jednak dochodzi do pozawątrobowej niedrożności dróg żółciowych, konieczny może okazać się zabieg chirurgiczny.

**Materiał i metody:** Opisany przypadek dotyczy rocznej kotki, która trafiła do Kliniki z powodu urazu komunikacyjnego. Prawdopodobnie bezdomna kotka z urazem kończyny miednicznej została przywieziona przez przypadkowych ludzi. Po zespoleniu kończyny kotka była hospitalizowana. W trakcie pobytu zwierzęcia w szpitalu zaobserwowano okresowe zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego oraz powiększony obrys jamy brzusznej. Wykonano badania laboratoryjne (badanie morfologiczne i biochemiczne krwi oraz badania kału). Wykonano również badanie ultrasonograficzne jamy brzusznej. Badanie kału wykonano metodą flotacji i dekantacji.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach krwi stwierdzono zwiększoną aktywność ALP, ALT oraz GGTP oraz niewielkiego stopnia niedokrwistość. W obrazie USG stwierdzono jednorodne powiększenie wątroby z zastojem żółci w woreczku oraz poszerzenie przewodów żółciowych. W badanym kale (metodą dekantacji) znaleziono jaja *Opisthorchis felineus*. Jaja przywry o wymiarach 26-30 x 15 µm mają na jednym biegunie wieczko, a na przeciwległym – guziczek, w chwili wydalania zawierają wykształcone miracidium.

Zastosowano leczenie farmakologiczne z użyciem prazikwantelu w dawce 25 mg/kg mc przez 3 kolejne dni. Schemat ten powtórzono 2-krotnie, ponieważ po pierwszym leczeniu w kale nadal znajdowały się jaja przywry.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Gundlach J.L., Sadzikowski A.B., 2004. Parazytologia i parazytozy zwierząt, PWRiL, Warszawa.
- [2] Bowman D.D., 2012. Parazytologia weterynaryjna. Georgis, Elsevier.
- [3] Schuster R.K., 2007. Veterinary Parasitology 150, 362–365.



## WYKRYWANIE WIRUSA BIAŁACZKI KOTÓW WE KRWI OBWODOWEJ ZA POMOCĄ TESTÓW KOMERCYJNYCH I METODY PCR

### FELINE LEUKEMIA VIRUS DETECTION IN PERIPHERAL BLOOD BY COMMERCIAL TESTS AND POLYMERASE CHAIN REACTION

Karolina Lipczyńska, Elżbieta Mikulska-Skupień, Wojciech Szweda

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: karolina.lipczynska@uwm.edu.pl

Białaczka kotów (Feline leukemia – FeL) wywoływana jest przez Feline leukaemia virus (FeLV), należący do rodziny *Retroviridae*, podrodziny *Orthoretrovirinae*. FeL jest jedną z najczęstszych chorób zakaźnych kotów, uważaną za istotną przyczynę zejść śmiertelnych, głównie zwierząt młodych. Choroba ta występuje u kotów domowych na całym świecie. Genom FeLV zbudowany jest z pojedynczej nici RNA o dodatniej polarności, zawiera także odwrotną transkryptazę. Enzym ten umożliwia przepisanie informacji genetycznej z retrowirusowego RNA na DNA, które wbudowuje się w materiał genetyczny komórek zakażonych. Rozpoznanie zakażenia FeLV wyłącznie na podstawie obrazu klinicznego i zmian anatomopatologicznych jest trudne ze względu na brak charakterystycznych objawów, a także występowanie okresów bezobjawowych. Ostateczne rozpoznanie możliwe jest dzięki metodom diagnostyki laboratoryjnej.

**Cel badań:** Wykrycie antygeny p27 (zakażenie aktywne) oraz prowirusowego DNA FeLV (zakażenie latentne).

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiła krew obwodowa pobrana od 43 kotów obojga płci, pochodzących ze schroniska dla zwierząt. Próbkę krwi uzyskano poprzez pobranie z żyły odpromieniowej do próbek zawierających antykoagulant – EDTA-K<sub>2</sub>. W badaniach własnych 43 próbki zostały przebadane testami do szybkiej diagnostyki FeLV (testy komercyjne), a także metodą PCR.

**Wyniki i omówienie:** Wykrywanie antygeny p27 FeLV przy użyciu komercyjnych testów do szybkiej diagnostyki Speed Duo FeLV-FIV dało wynik dodatni w dwóch próbkach krwi na 43 zbadane (4,7%). W badaniu metodą PCR, z zastosowaniem pary specyficznych starterów (FeLV-F: 5'-GCCAGCTACTGCAGTGTGTGCAT-3' i FeLV-R: 5'-CTGGGGGTTGGGGTCTTTATCC-3') (1) prowirusowe DNA zostało wykryte w tych samych dwóch próbkach, które dały wynik pozytywny w badaniu testami SpeedDuo FeLV-FIV.

W pozostałych 41 próbkach nie wykryto prowirusowego DNA. Oczyszczone produkty reakcji poddano sekwencjonowaniu. Do analizy sekwencji nukleotydowych wykorzystano oprogramowanie Fitch TV 1.4.0., Reverse Complement (2008), BioEdit Sequence Alignment Editor. Obliczenia wykonano metodą ClustalW.

Analiza wyników potwierdziła, że otrzymany produkt amplifikacji odpowiada sekwencji z regionu LTR genomu FeLV.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Herring E.S., Troy G.C., Toth T.E., Forrester S.D., Weigt L.A., Herring I.P., 2001. Detection of feline leukaemia virus in blood and bone marrow of cats with varying suspicion of latent infection, *J. Feline Med. Surg.*, 3, 133–141.





## PROFIL TRANSKRYPTOMICZNY KOMÓREK JĄDRZASTYCH KRWI OBWODOWEJ PSÓW Z NIWYDOLNOŚCIĄ MIĘŚNIA SERCOWEGO KLASY III ISACHC

### TRANSCRIPTOMIC PROFILE OF PERIPHERIAL BLOOD NUCLEAR CELLS IN DOGS WITH CLASS III ISACHC HEART FAILURE

Magdalena Łój, Magdalena Garncarz, Marta Parzeniecka-Jaworska, Alicja Majewska, Hanna Kosińska, Michał Jank

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Fizjologii Zwierząt, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa, e-mail: magda.loj@gmail.com

Niewydolność serca jest istotnym problemem w populacji psów domowych. Jedną z jej przyczyn może być endokardioza zastawki dwudzielnej. Obecnie wiemy, że choroba ta ma pewien charakter dziedziczny [1]. W związku z tym wielu badaczy podjęło próby zidentyfikowania genów, których patologiczna ekspresja może być powiązana z niewydolnością serca. Jednak pozyskanie materiału diagnostycznego do badań genetycznych i genomicznych z biopsji serca żyjącego psa jest niemal niemożliwe. Z tego powodu podjęto próby oceny ekspresji genów w komórkach krwi obwodowej pacjentów z chorobami serca.

**Cel badań:** Identyfikacja genów, które na skutek wystąpienia niewydolności serca klasy III według skali ISACHC (International Small Animal Health Council) ulegają zmienionej ekspresji w komórkach jądrzastych krwi obwodowej psów.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiła krew obwodowa psów zdrowych oraz psów z niewydolnością mięśnia sercowego klasy III ISACHC. Psy klasyfikowane były do określonej grupy po przeprowadzeniu badań klinicznych, kardiologicznych oraz laboratoryjnych. Następnie z pobranego materiału izolowano RNA, które po ocenie jakościowej i ilościowej posłużyło do wykonania mikromacierzy DNA (Agilent, USA). Analizę statystyczną otrzymanych wyników przeprowadzono przy użyciu programu Gene Spring.

**Wyniki i omówienie:** Porównanie ekspresji genów w komórkach jądrzastych krwi obwodowej psów zdrowych oraz psów z niewydolnością serca klasy III ISACHC wykazało istotną statystycznie ( $p < 0,05$ ) zmianę ekspresji 257 genów. Zidentyfikowane geny posiadają różne funkcje molekularne, z których najliczniej reprezentowane są regulacja transkrypcji, aktywność katalityczna oraz czynniki wiążące. Zaangażowane są one w wiele procesów biologicznych, wśród których przeważają procesy metaboliczne i komórkowe. Geny, których ekspresja różniła badane grupy, uczestniczą w wielu szlakach sygnałowych powiązanych z chorobami serca; są to m.in. szlaki sygnałowe VEGF, PDGF, Wnt, szlaki sygnałowe endotelin, angiogenezy, a także aktywacji komórek T i B, procesów zapalnych, których mediatorami są cytokiny i chemokiny. Wśród zidentyfikowanych genów znajduje się m.in. ETS1 *Canis familiaris similar to v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 1, transcript variant 1*. Wyciszenie ekspresji genu ETS1 powoduje zahamowanie ekspresji metaloproteiny 9, która jest istotna przy zaburzeniach kardiologicznych [2].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Rush, J.E., 2004. Canine chronic valvular heart disease: pathology and pathogenesis, [in:] Proceedings of the American College of Veterinary Internal Medicine – Cardiology Forum, 58.
- [2] Kato T., Fujita Y., Nakane K., Kojima T., Nozawa Y., Deguchi T., Ito M., 2012. ETS1 promotes chemoresistance and invasion of paclitaxel-resistant, hormone-refractory PC3 prostate cancer cells by up-regulating MDR1 and MMP9 expression. *Biochem Biophys Res Commun.*, 417, 3, 966–971.



## ANALIZA STANU HIPOKSJI W NOWOTWORACH NABŁONKOWYCH U PSÓW NA PODSTAWIE EKSPRESJI CZYNNIKA INDUKOWANEGO NIEDOTLENIENIEM (HIF1 $\alpha$ ) ORAZ GĘSTOŚCI UTKANIA NACZYŃ KRWIONOŚNYCH

### ANALYSIS OF HYPOXIA CONDITION IN EPITHELIAL TUMORS IN DOGS BASED ON FACTOR EXPRESSION INDUCED BY HYPOXIA (HIF1 $\alpha$ ) AND BLOOD VESSELS WEAVING

Janusz Antoni Madej<sup>1</sup>, Marcin Nowak<sup>1</sup>, Jan Paweł Madej<sup>1</sup>, Piotr Dzięgiel<sup>2</sup>, Izabela Sambor<sup>1</sup>,  
Stanisław Dzimira<sup>1</sup>, Małgorzata Kandefer-Gola<sup>1</sup>, Rafał Ciaputa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii, Zakład Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: marcin.nowak@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Akademia Medyczna we Wrocławiu, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, ul. Chałubińskiego 6a, 50-368 Wrocław

Badania immunohistochemiczne nowotworów u ludzi wykazały silną nadekspresję HIF-1 $\alpha$  w wielu powszechnie występujących nowotworach, co prawdopodobnie jest konsekwencją zarówno hipoksji wewnątrz guza, jak i różnych zaburzeń genetycznych w komórkach nowotworowych.

**Cel pracy:** Wykazanie ekspresji białka HIF-1 alfa oraz określenie jej nasilenia w najczęściej występujących złośliwych i niezłośliwych nowotworach pochodzenia nabłonkowego (gruczolakorakach oraz gruczolakach gruczołu sutkowego) u psów. Ponadto podjęto próbę korelacji uzyskanych wyników z gęstością naczyń krwionośnych w guzie.

**Materiał i metody:** Materiał do badań pobrano w trakcie zabiegu chirurgicznego od 79 suk, różnej rasy w wieku od 6 do 16 lat, u których wystąpił nowotwór sutka. Guzy nowotworowe weryfikowano histopatologicznie i dzielono na dwie grupy (gruczolakoraki i gruczolaki).

Wycinki nowotworów utrwalano w 7% zbuforowanej formalinie, odwadniano, a następnie zatapiano w bloczki parafinowe. Do oznaczania ekspresji HIF-1 $\alpha$  na skrawkach parafinowych wykorzystano dedykowane przeciwciało (Affinity-purified Goat Anti-human/mouse/rat HIF-1 $\alpha$  Antibody (R&D System), natomiast do wyznaczenia naczyń krwionośnych w guzie zastosowano przeciwciało poliklonalne (Polyclonal Rabbit Anti-Human Von Willebrand Factor (Dako)).

Z otrzymanych preparatów wykonano zdjęcia mikroskopowe, które poddano komputerowej analizie na stanowisku złożonym z komputera sprzężonego z mikroskopem firmy Olympus model BX53.

**Wyniki i omówienie:** W przeprowadzonych badaniach ekspresję białka HIF-1 $\alpha$  wykazano zarówno w gruczolakach, jak i gruczolakorakach gruczołu sutkowego u suk. Ekspresję HIF-1 $\alpha$  stwierdzono w 90% gruczolakoraków oraz w 86% gruczolaków. Należy zaznaczyć, że zaobserwowano wyraźne różnice w nasileniu stopnia ekspresji badanego białka w obu grupach nowotworów. Ważnym aspektem przeprowadzonych badań było wykazanie korelacji między ekspresją białka HIF-1 $\alpha$  a ilością (gęstością) naczyń krwionośnych w guzie oznaczanych z wykorzystaniem czynnika von Willebranda. Zarówno w gruczolakach, jak i gruczolakorakach ww. korelacja była silna i dodatnia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bos R., Zhong H., Hanrahan C.F., Mommers E.C., Semenza G.L., Pinedo H.M., Abeloff M.D., Simons J.W., van Diest P.J., Wall E., 2001. Levels of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  during breast carcinogenesis. J. Natl. Cancer Inst., 93, 309–314.
- [2] Brahimi-Horn M.Ch., Pouyssegur J., 2007. Harnessing the hypoxia-inducible factor in cancer and ischemic disease. Biochem Pharmacol., 73:3, 450–457.

Praca wykonana w ramach Projektu Badawczego nr 26/7-W/2010/G.



## EKSPRESJA I WPŁYW GRELINY NA MIGRACJĘ I INWAZYJNOŚĆ KOMÓREK NOWOTWOROWYCH GRUCZOŁU SUTKOWEGO U SUK

### EXPRESSION AND THE EFFECT OF GHRELIN ON MIGRATION AND INVASIVENESS OF CANINE MAMMARY CANCER CELLS

Kinga Majchrzak<sup>1</sup>, Joanna Mucha<sup>1</sup>, Karol Marcin Pawłowski<sup>1,2</sup>, Tomasz Motyl<sup>1</sup>, Magdalena Król<sup>1</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Nauk Fizjologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, <sup>2</sup>Katedra Biologii Środowiska Zwierząt, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

Grelina jest hormonem peptydowym zidentyfikowanym jako naturalny ligand receptora pobudzającego uwalnianie hormonu wzrostu (GHS-R), zwanego też receptorem grelinowym. Koekspresję greliny i jej receptora wykazano w wielu typach nowotworów u ludzi oraz wyprowadzonych z nich nowotworowych liniach komórkowych, co wskazują na istotną rolę osi grelina/GHS-R w rozwoju i progresji zmian nowotworowych, prawdopodobnie na drodze auto-/parakrynej. Ponadto wykazano, że grelina stymuluje zdolności migracyjne i inwazyjność komórek gruczolakoraka trzustki, gwiaździka oraz komórek nowotworowych jelita grubego u ludzi [1]

**Cel badań:** Ocena ekspresji greliny i jej receptora w liniach komórkowych izolowanych z nowotworów gruczołu sutkowego u suk. Ponadto scharakteryzowanie wpływu greliny na zdolności migracyjne i inwazyjność komórek nowotworowych badanych linii.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły dwie linie izolowane z ognisk pierwotnych gruczolakoraka gruczołu sutkowego (CMT-W1 i CMT-W2) i dwie izolowane z ich przerzutów do płuc (CMT-W1M i CMT-W2M). Ekspresja greliny i GHS-R była oszacowana za pomocą techniki Real-time qPCR i barwienia immunohistochemicznego. W celu analizy zdolności migracyjnych komórek nowotworowych zastosowano test „gojenia się rany”. Ocenę wpływu greliny na inwazyjność komórek nowotworowych przeprowadzono z użyciem systemu komór Boydena pokrytych warstwą Matrigelu stanowiącego imitację błony postawnej śródbłonna, będącej naturalną barierą dla komórek inwazyjnych w warunkach *in vivo*.

**Wyniki i omówienie:** Ekspresję greliny i jej receptora wykazywały wszystkie badane nowotworowe linie komórkowe, przy czym zwiększoną ekspresją obu białek charakteryzowały się linie przerzutowe w stosunku do linii izolowanych z nowotworów pierwotnych. Ponadto zastosowanie greliny (10nM, 100nM) w badaniach *in vitro* powodowało istotne statystycznie zwiększenie ruchliwości komórek nowotworowych i przyczyniało się do zamknięcia „rany” utworzonej w konfluentnej jednowarstwowej hodowli komórkowej już po 9 godzinach od jej wykonania w liniach CMT-W1 i CMT-W1M. Podczas gdy zastosowanie specyficznego antagonisty receptora grelinowego ([D-Lys<sup>3</sup>]-GHRP6) istotnie statystycznie zmniejszało ruchliwość komórek nowotworowych i pełnego zamknięcia wykonanej w teście „rany” nie udało się uzyskać nawet po 24 godzinach od jej wykonania. Ponadto grelina w niskich dawkach (1 i/lub 10nM) powodowała zwiększenie zdolności migracyjnych i inwazyjności komórek nowotworowych wszystkich badanych linii komórkowych, ocenianych za pomocą systemu komór Boydena.

Podsumowując, obecność zarówno greliny, jak i jej receptora w badanych liniach komórkowych, wskazuje na istotną rolę osi grelina/GHS-R w rozwoju i progresji nowotworów gruczołu sutkowego u suk. Ponadto grelina wpływa na potencjał przerzutowy tego typu nowotworów przez stymulację zdolności migracyjnych i inwazyjnych komórek nowotworowych. Uzyskane wyniki sugerują, że blokowanie osi grelina/GHS-R może mieć korzystne skutki terapeutyczne w leczeniu nowotworów gruczołu sutkowego u suk w przyszłości. Niemniej jednak konieczne jest poznanie molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych z działanie greliny na komórki nowotworowe. Badania finansowane przez MNiSW, grant nr N308077239 I N308230536.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Chopin L., Walpole C., Seim I., Cunningham P., Murray R., Whiteside E., Josh P., Herington A., 2011. Ghrelin in cancer. *Mol Cell Endocrinol.*, 340, 65–69.



## TOMOGRAFIA KOMPUTEROWA KLATKI PIERSIOWEJ I ODCINKA PIERSIOWEGO KRĘGOSŁUPA U 1-DNIOWYCH SZCZENIĄT

### COMPUTED TOMOGRAPHY OF THE THORAX AND THORACIC SPINE IN 1-DAY PUPPIES

Andrzej Max<sup>1</sup>, Bartłomiej J. Bartyzel<sup>2</sup>, Bartłomiej Szal<sup>1</sup>, Paweł Szaro<sup>3,4</sup>, Marek Gołębiowski<sup>4</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, <sup>2</sup>Katedra Nauk Morfologicznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, <sup>3</sup>Zakład Anatomii Prawidłowej i Klinicznej, <sup>4</sup>Zakład Radiologii Klinicznej, e-mail: andrzej\_max@sggw.pl

W klatce piersiowej znajdują się narządy, których dysfunkcja skutkować może bezpośrednio śmiercią. Szczegółowa diagnostyka wad, zwłaszcza wrodzonych, może dać szansę na adekwatne leczenie. Badanie pośmiertne z kolei może okazać się pomocne dla orzeczenia o przyczynie śmierci zwierzęcia oraz ustalenia na jakim etapie do niej doszło. Możliwa się staje ocena tkanki płucnej oraz ewentualnych anomalii układu krążenia bez potrzeby wykonania sekcji, na którą nie zawsze jest zgoda właściciela. Badania za pomocą tomografii komputerowej bywają już wykonywane rutynowo u psów dorosłych, w tym także w celach poznawczych [1, 2]. U noworodków zwierząt są one w stadium początkowym.

**Cel badań:** Rozpoznanie możliwości wykorzystania zastosowanej techniki diagnostycznej w neonatologii małych zwierząt.

**Materiał i metody:** Badaniu poddano 5 martwych jednodniowych szczeniąt. Wykonano dokumentację fotograficzną oraz badanie radiologiczne w spiralnym 64-rzędowym tomografie komputerowym Toshiba Aquilion. Zdjęcia przekrojowe wykonano w odstępach od 0,5 do 3 mm. Sporządzono rekonstrukcję objętościową klatki piersiowej i kręgosłupa piersiowego w różnych płaszczyznach za pomocą stacji graficznej firmy Philips.

**Wyniki i omówienie:** W badaniu uwidoczniono elementy szkieletu i struktury wewnętrzne: serce, płuca, duże naczynia krwionośne, tchawica, przełyk, przepona. U wszystkich szczeniąt stwierdzono niepełne zrośnięcie się łuków kręgowych w odcinku piersiowym. U części badanych szczeniąt wykazano obecność płynu w tkance mięsistej płuc, co wskazywałoby na niemożność wykonania przez nie oddechu. Stopień rozwinięcia innych narządów wskazywał na to, że śmierć nastąpiła w okresie okołoporodowym. Ma to znaczenie, gdy poród odbywał się bez udziału człowieka lub gdy informacje z wywiadu okazują się być sprzeczne z oceną lekarza weterynarii. W takim przypadku podanie środka cieniującego umożliwiłoby dokładniejszą ocenę jam serca i obwodowego układu naczyniowego.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Gielen I.M., De Rycke L.M., van Bree H.J., Simoens P.J., 2001. Computed tomography of the tarsal joint in clinically normal dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 62, 12, 1911–1915.
- [2] De Rycke L.M., Gielen I.M., Simoens P.J., van Bree H., 2005. Computed tomography and cross-sectional anatomy of the thorax in clinically normal dogs, *Am. J. Vet. Res.*, 66, 3, 512–524.



## OBRAZOWANIE ROZSZCZEPU PODNIEBIENIA U SZCZENIĄT NOWORODKÓW

### IMAGING OF THE CLEFT PALATE IN NEWBORN PUPPIES

Andrzej Max<sup>1</sup>, Bartłomiej J. Bartyzel<sup>2</sup>, Bartłomiej Szal<sup>1</sup>, Paweł Szaro<sup>3,4</sup>, Marek Gołębiowski<sup>4</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, <sup>2</sup>Katedra Nauk Morfologicznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, <sup>3</sup>Zakład Anatomii Prawidłowej i Klinicznej, <sup>4</sup>I Zakład Radiologii Klinicznej, e-mail: andrzej\_max@sggw.pl

Rozszczep podniebienia jest występującą u ludzi i zwierząt wrodzoną wadą o nie do końca poznanej etiologii. Za jej występowanie odpowiedzialne wydają się być zarówno czynniki genetyczne (szlak wieloczynnikowy, recesywny, poligeniczny, dominujący z niepełną penetracją), jak również środowiskowe, działające poprzez organizm matki podczas ciąży. Wada ta pojawia się relatywnie często u zwierząt wielopłodowych. Brak jest w tym względzie dokładnych badań populacyjnych, między innymi z powodu zatajania informacji przez hodowców. W jednym z polskich badań spośród 526 szczeniąt badanych w okresie pourodzeniowym, stwierdzono rozszczep podniebienia u 18 noworodków (3,4%). Pochodziły one z 14 spośród 112 analizowanych porodów, co stanowi 12,5% [1]. Radiologiczne obrazowanie zmian rozszczepowych pozwoli lepiej ocenić problem i pomóc wskazać właściwą drogę do jego rozwiązania.

**Cel badań:** Próba określenia przydatności diagnostyki tomograficznej w rozpoznawaniu stopnia nasilenia wady oraz ewentualnych wad współistniejących w obrębie głowy.

**Materiał i metody:** Podczas oceny klinicznej przeprowadzanej u szczeniąt bezpośrednio po porodzie wybrano 5 noworodków z makroskopowo widocznym rozszczepem podniebienia. Były one martwo urodzone lub poddane eutanazji w pierwszym dniu życia. Wykonano dokumentację fotograficzną oraz badanie radiologiczne w spiralnym 64-rzędowym tomografie komputerowym Toshiba Aquilion. Zdjęcia przekrojowe wykonano w odstępach od 0,5 do 3 mm. Sporządzono także rekonstrukcję objętościową kości czaszki w różnych płaszczyznach za pomocą stacji graficznej firmy Philips.

**Wyniki i omówienie:** Rozległość rozszczepu miała u poszczególnych szczeniąt różny zasięg. Według badania klinicznego wśród badanych osobników stwierdzono: w jednym przypadku rozszczep podniebienia pierwotnego jednostronny, w jednym obustronny oraz w trzech przypadkach rozszczep podniebienia wtórnego. W obu przypadkach rozszczepu podniebienia pierwotnego badanie radiologiczne potwierdziło występowanie ubytków w kk. siekaczowych. W dwóch przypadkach rozszczepu podniebienia wtórnego badanie tomograficzne ujawniło ubytki w szczęce, a ponadto w kościach tworzących podniebienie pierwotne. Jeden analizowany przypadek wymaga powtórnych badań radiologicznych z uwagi na problemy techniczne. Wrodzony rozszczep podniebienia zwierząt, w tym psów powoduje w przytłaczającej większości przypadków śmierć noworodków – spontaniczną z powodu niemożności skutecznego ssania lub przez eutanazję. Z jednej strony jest to eliminacja potencjalnie genetycznie uwarunkowanej wady w populacji (aczkolwiek ma ona charakter pozorny, bowiem usuwa się tylko osobniki o wadliwym fenotypie), z drugiej zaś utrzymanie ich przy życiu przez okres ssania wymaga znacznego wysiłku ze strony hodowców, którzy niechętnie podejmują takie starania. Poza tym nie ma wypracowanych technik chirurgicznych przeznaczonych dla osesków. Badaniem klinicznym tylko częściowo można ustalić zakres wady i w związku z tym możliwości naprawcze. Wczesne badanie obrazowe mogłoby zatem dać racjonalne podstawy do zakwalifikowania szczenięcia do zabiegu chirurgicznego lub do eutanazji – w przypadku zmian źle rokujących. Powyższe informacje są przyczynkiem do dalszych badań obrazowych, które w przyszłości pozwolą na opracowanie wzorców dla szczeniąt różnych ras i grup wiekowych.

#### Piśmiennictwo:

[1] Max A., Jurka P., 1994. Poporodowa ocena noworodków psów, *Życie Wet.*, 69, 50–51.





## REKONSTRUKCJA OBJĘTOŚCIOWA TOMOGRAFII KOMPUTEROWEJ SZKIELETÓW SZCZENIĄT NOWORODKÓW

### VOLUME RENDERING OF THE SKELETON IN NEWBORN PUPPIES

**Andrzej Max<sup>1</sup>, Bartłomiej J. Bartyzel<sup>2</sup>, Bartłomiej Szal<sup>1</sup>, Paweł Szaro<sup>3,4</sup>, Marek Gołębiowski<sup>4</sup>**

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, <sup>2</sup>Katedra Nauk Morfologicznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, <sup>3</sup>Zakład Anatomii Prawidłowej i Klinicznej, <sup>4</sup>I Zakład Radiologii Klinicznej, e-mail: andrzej\_max@sggw.pl*

Wiodącą techniką obrazowania radiologicznego w Polsce jest badanie RTG. Ze względu na wykonywanie zdjęć dwuwymiarowych zakres jego przydatności bywa niezadowalający. Badania trójwymiarowe, jakimi są tomografia komputerowa oraz rekonstrukcja objętościowa, umożliwiają bardzo szczegółową ocenę położenia względem siebie struktur o różnym charakterze. Są one wykorzystywane w medycynie człowieka, np. w chirurgii szczękowo-twarzowej [1]. W medycynie weterynaryjnej stanowią one wciąż nowość.

**Cel badań:** Rozpoznanie możliwości wykorzystania zastosowanej techniki diagnostycznej w neonatologii małych zwierząt, w tym do celów dydaktycznych.

**Materiał i metody:** Badaniu poddano 10 martwych jednodniowych szczeniąt obu płci. Wykonano dokumentację fotograficzną oraz badanie radiologiczne w spiralnym 64-rzędowym tomografie komputerowym Toshiba Aquilion. Sporządzono rekonstrukcję objętościową kośćca w różnych płaszczyznach za pomocą stacji graficznej firmy Philips.

**Wyniki i omówienie:** Rekonstrukcja objętościowa umożliwia szybką i całościową ocenę budowy szkieletu u noworodków psów. Takie badania nie są obecnie wykonywane w neonatologii weterynaryjnej, dlatego też wszystkie próby w tym zakresie należy uznać jako wstępne. Brak jest też w tym zakresie odnośnego piśmiennictwa. Rekonstrukcja objętościowa szkieletów na wczesnym etapie rozwojowym pozwoli wykryć wady wrodzone kośćca nie rozpoznawane we wczesnym badaniu klinicznym i umożliwi wyeliminowanie z hodowli osobników chorych lub da przesłanki do ich ewentualnego leczenia. Możliwa stanie się także ocena prawidłowości wzrostu tkanki kostnej przez kolejne badania. Wskazane są dalsze badania, między innymi zmierzające do opracowania wzorców dla osobników należących do różnych ras i grup wiekowych. Prezentacje tego typu ułatwiają ocenę stosunków topograficznych u ssaków i mogą być przydatne w procesie nauczania studentów Wydziałów Medycyny Weterynaryjnej.

#### **Piśmiennictwo:**

- [1] Eggers G., Klein J., Welzel T., Mühling J., 2008. Geometric accuracy of digital volume tomography and conventional computed tomography. *Br. J. Oral. Maxillofac Surg.*, 46, 8, 639–644.



## OBRAZOWANIE GŁOWY U SZCZENIĄT NOWORODKÓW RÓŻNYCH RAS IMAGING OF THE HEAD IN NEWBORN PUPPIES OF DIFFERENT BREEDS

Andrzej Max<sup>1</sup>, Bartłomiej J. Bartyzel<sup>2</sup>, Bartłomiej Szal<sup>1</sup>, Paweł Szaro<sup>3,4</sup>, Marek Gołębiowski<sup>4</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, <sup>2</sup>Katedra Nauk Morfologicznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny, <sup>3</sup>Zakład Anatomii Prawidłowej i Klinicznej, <sup>4</sup>I Zakład Radiologii Klinicznej, e-mail: andrzej\_max@sggw.pl

Pies domowy *Canis lupus familiaris* jest gatunkiem zwierzęcia, u którego obserwujemy bardzo znaczną zmienność rasową. W warunkach naturalnych z powodu przeszkód anatomicznych niemożliwe staje się uzyskanie potomstwa od pary osobników zbyt różniących się wielkością. Zmiany dostrzegamy także w typie budowy kości czaszki, które w pewnych warunkach mogą dać podstawę zaistnienia przeszkody porodowej ze strony płodu. Istnieją też predylekcje rasowe do wrodzonych wad budowy [1, 2]. Badanie z wykorzystaniem najnowszych technik radiologicznych pozwoli lepiej uwidocznić i opisać charakterystyczne cechy badanych struktur morfologicznych.

**Cel badań:** Próba wykorzystania wielorzędowej tomografii komputerowej jako metody precyzyjnej oceny anatomicznej głowy szczeniąt.

**Materiał i metody:** Badaniu poddano 10 martwych jednodniowych szczeniąt obu płci należących do różnych ras: od miniaturowych do molosów. Wykonano dokumentację fotograficzną oraz badanie radiologiczne w spiralnym 64-rzędowym tomografie komputerowym Toshiba Aquilion. Zdjęcia przekrojowe wykonano w odstępach od 0,5 do 3 mm. Sporządzono także rekonstrukcję objętościową kości czaszki w różnych płaszczyznach za pomocą stacji graficznej firmy Philips.

**Wyniki i omówienie:** Zarówno w skanach, jak i rekonstrukcji objętościowej dobrze zobrazowano struktury: zatoki przynosowe, mózgowie, zawiązki zębów, ciemiączko, elementy kostne tworzące podniebienie, szwy czaszki. Gorzej obrazowane były małe struktury, takie jak np. elementy kości skroniowej. Na jakość obrazowania miało też duży wpływ usytuowanie badanego materiału przez obsługę techniczną; konsekwencją tego były nie w pełni czytelne skany głowy, wymagające powtórnej diagnostyki. Tego typu badania pozwolą w przyszłości w praktyce weterynaryjnej na szybką diagnozę i ocenę kliniczną m.in. kośćca mózgowioczaszki i trzewioczaszki, zatok przynosowych oraz mózgowia pod kątem zmian rozwojowych u nowo narodzonych szczeniąt. Prawidłowa interpretacja tych badań wymaga szczegółowej znajomości anatomii radiologicznej z uwzględnieniem specyfiki rasowej. Badania obrazowe z wykorzystaniem wielorzędowej tomografii komputerowej mogą być też przydatne we wczesnej diagnostyce wad u zwierząt towarzyszących człowiekowi. Mogą też być wykorzystane do poznawania na modelu zwierzęcym podobnych procesów zachodzących u ludzi [3].

### Piśmiennictwo:

- [1] Kemp C., Thiele H., Dankof A., Schmidt G., Lauster C., Fernahl G., Lauster R., 2009. Cleft lip and/or palate with monogenic autosomal recessive transmission in Pyrenees shepherd dogs, *Cleft Palate Craniofac J.*, 46, 1, 81–88.
- [2] Moura E., Cirio S.M., Pimpão C.T., 2011. Non-syndromic cleft lip and palate in Boxer dogs: Evidence of monogenic autosomal recessive inheritance, *Cleft Palate Craniofac J.*, 48, Aug 1. [Epub].
- [3] Elwood J.M., Colquhoun T.A., 1997. Observations on the prevention of cleft palate in dogs by folic acid and potential relevance to humans, *N Z Vet. J.*, 45:6, 254–256



## WYSTĘPOWANIE GATUNKÓW KLESZCZY U PSÓW NA TERENIE OLSZTYNA OCCURENCE OF THE TICKS SPECIES IN DOGS ON THE OLSZTYN-CITY AREA

Miroslaw Mariusz Michalski, Rajmund Sokół

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: mmich@uwm.edu.pl

W Polsce stwierdzono 21 gatunków kleszczy z rzędu *Ixodida* uznanych za stałe elementy fauny polskiej oraz pojedyncze przypadki zawlekania 5 innych gatunków kleszczy właściwych (*Ixodidae*). Kleszcz pospolity – *Ixodes ricinus* jest najczęściej zbieranym gatunkiem w Polsce i ma największe znaczenie medyczo-weterynaryjne. *Dermacentor reticulatus* (kleszcz łąkowy) występuje głównie w rejonie północno-wschodnim kraju i jest drugim co do wielkości infestacji gatunkiem na terenie Europy. W Polsce jest on notowany w rejonach wschodnich. W okresie swojej aktywności może być nawet liczebniejszy od *Ixodes ricinus*. *Rhipicephalus sanguineus* jest notowany wyjątkowo i są to przypadki zawleczenia z rejonów południowej Europy. U kleszczy występuje zjawisko diapauzy, określające dwa sezony szczytowej aktywności głodnych osobników – szczyt wiosenny i szczyt jesienny.

**Cel badań:** Stwierdzenie infestacji psów na terenie Olsztyna poszczególnymi gatunkami kleszczy w okresie ich największej aktywności życiowej.

**Materiał i metody:** Materiałem do badań były kleszcze zebrane z psów-pacjentów lecznic weterynaryjnych na terenie Olsztyna od kwietnia do maja, sezonie najwyższej aktywności, przez trzy kolejne lata. Przynależność gatunkową kleszczy oznaczano na podstawie klucza do oznaczania gatunków kleszczy, a następnie segregowano na poszczególne stadia rozwojowe.

**Wyniki i omówienie:**

Tabela 1. Liczba poszczególnych gatunków kleszczy zebranych z psów-pacjentów olsztyńskich lecznic weterynaryjnych w okresie kwiecień-maj w latach 2009–2011

Rok	Łącznie	<i>Ixodes ricinus</i>	<i>Dermacentor reticulatus</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
2009	434	330 (76,0%)	104 (23,96%)	0
2010	394	208 (52,79%)	186 (47,21%)	0
2011	426	298 (69,95%)	126 (29,58%)	2 (0,47%)
Łącznie	1254	836 (66,67%)	416 (33,17%)	2 (0,16%)

Wyniki badań wykazały, że na badanym terenie zdecydowaną przewagę w występowaniu ma *Ixodes ricinus*. Stwierdzono go nawet trzykrotnie więcej niż *Dermacentor reticulatus*. W 2010 roku różnica ta była najmniejsza. Średnia z trzech lat badań dla *I. ricinus* wyniosła 66,67%, a przykładowo w Wielkiej Brytanii 72,1%, na Węgrzech 43,2%. W 2011 r. stwierdzono dwukrotnie infestację psów gatunkiem *Rhipicephalus sanguineus*, co stanowi bardzo rzadki przypadek w badaniach krajowych. W 2009 roku zdecydowanie przeważały samice kleszczy w stosunku do nimf, z kolei w kolejnych latach badań przeważały nimfy kleszczy w stosunku do nassanych samic.

### Piśmiennictwo:

- [1] Siuda K., 1993. Kleszcze Polski (Acari: Ixodida), cz. II, Systematyka i rozmieszczenie: PTP, Warszawa.
- [2] Siuda K., 1995. Fauna kleszczy (Acari: Ixodida) w Polsce: Wiadomości Parazytologiczne, 41:3, 277–288.
- [3] Smith F.D., Ballantyne R., Morgan E.R., Wall R., 2011. Prevalence, distribution and risk associated with tick infestation of dogs in Great Britain: Medical and Veterinary Entomology, 25, 377–384.



## WPŁYW WITRYFIKACJI KOMÓREK JAJOWYCH KOTA DOMOWEGO NA ICH ŻYWOTNOŚĆ PO ROZMROŻENIU I ZMIANY W STRUKTURZE CYTOSZKIELETU

### THE INFLUENCE OF VITRIFICATION ON VIABILITY AND CYTOSKELETAL CHANGES OF DOMESTIC CAT OOCYTES

Natalia Mikołajewska<sup>1,2</sup>, Karin Müller<sup>2</sup>, Wojciech Niżanski<sup>1</sup>, Katarina Jewgenow<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich,

<sup>2</sup>Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research, Berlin,

e-mail: nataliamikolajewska@hotmail.com

Techniki wspomaganego rozrodu, takie jak zapłodnienie pozaustrojowe, kriokonserwacja gamet oraz transfer zarodków, pełnią kluczową rolę w ratowaniu populacji ginących zwierząt. Opracowano wiele protokołów badań z użyciem gamet kota domowego, które mogą być z powodzeniem stosowane u dzikich kotowatych. Wszystkie 36 gatunków dzikich kotowatych są wpisane do Czerwonej Księgi Gatunków Zagrożonych [1].

**Cel pracy:** Porównanie witryfikacji niedojrzałych oraz poddanych dojrzewaniu *in vitro* komórek jajowych kota domowego w celu wyznaczenia najskuteczniejszej procedury nitryfikacyjnej oraz badanie procesów zachodzących w czasie kriokonserwacji.

**Materiał i metody:** W przeprowadzonym doświadczeniu niedojrzałe oraz dojrzałe komórki jajowe kota domowego poddawane były procesowi witryfikacji. W skład roztworu witryfikacyjnego (VS) wchodziły: 20% EG, 20% DMSO, 20% FCS, 1.5 M trehaloza oraz ewentualny dodatek 10% Ficoll PM-70. Czas poszczególnych etapów witryfikacji został opracowany w badaniach wstępnych [2]. W eksperymencie pierwszym oocyty witryfikowane były z użyciem przyrządu Cryotop (Kitazato BioPharma Co.) oraz techniki Cryoloop z wykorzystaniem plastikowej ezy mikrobiologicznej. Po przechowaniu w ciekłym azocie (LN) i rozmrożeniu oocyty barwione były z użyciem jodku propidyn (PI – 200 µg/ml) i dioctanu fluoresceiny (FDA – 10 µg/ml), a ich żywotność oceniana była w mikroskopie fluorescencyjnym. W eksperymencie drugim oocyty witryfikowane były z wykorzystaniem techniki Cryoloop. Po przechowaniu w LN i rozmrożeniu oocyty barwione były przy użyciu trójkolorystycznej metody fluorescencyjnej w celu oceny mikrofilamentów (Falloidyna znaczone TRITC – 3 ng/ml), mikrotubul (przeciwciała monoklonalne anty- $\alpha$ -tubulina znaczone FITC – 1/50) oraz chromatyny (DAPI – 1 µg/ml) i następnie oceniane przy zastosowaniu laserowego mikroskopu konfokalnego.

**Wyniki i omówienie:** W eksperymencie pierwszym stwierdzono istotne różnice pomiędzy porozmrożeniową żywotnością niedojrzałych komórek jajowych witryfikowanych z dodatkiem Ficoll PM-70 – 41% i bez dodatku Ficoll PM-70 – 25%. Nie stwierdzono różnic pomiędzy przeżywalnością komórek jajowych dojrzałych 52% i niedojrzałych 41%. W eksperymencie drugim 32% oocytów dojrzałych oraz 28% niedojrzałych nie wykazało uszkodzeń cytoszkieletu. W grupie kontrolnej, istotnie mniej komórek nie wykazywało zmian w cytoszkielecie: 63% oocytów dojrzałych i 55% niedojrzałych. Wykazano, że Ficoll PM-70 znacząco poprawia przeżywalność komórek jajowych w czasie witryfikacji, co potwierdza jego istotną rolę jako nie przenikającej substancji kriochronnej. Nie stwierdzono różnicy pomiędzy porozmrożeniową żywotnością komórek jajowych witryfikowanych z użyciem przyrządów Cryotop (52%) i Cryoloop (51%), co dowodzi skuteczności opracowanej metody. Jest ona ponadto tańsza od metody komercyjnej. Opracowana metoda wizualizacji umożliwia dokładną ocenę cytoszkieletu i może okazać się bardzo przydatna w dalszych badaniach związanych z witryfikacją komórek jajowych. Podsumowując – zastosowany w doświadczeniu protokół witryfikacji pozwala na uzyskanie żywotnych komórek o prawidłowej budowie cytoszkieletu, co jest obiecujące, ale do pełnej oceny powyższej metody wymagane są dalsze badania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Waurich R., Ringleb J., Jewgenow K., 2011. Felid Gametes Rescue Project: Applying domestic cat *in vitro* protocols for oocytes of exotic felid. Repr. Dom. Anim. 46 (Suppl. 1), 45.
- [2] Mikołajewska N., Ringleb J., Niżanski W., Jewgenow K., 2011. Felid Gamete Rescue Project: Basic steps towards vitrification of immature cat oocytes. Repr. Dom. Anim. 46 (Suppl. 1), 30.



## KRYPTOKOKOZA U PSA

### CRYPTOCOCCOSIS IN DOG

Elżbieta Mikulska-Skupień<sup>1</sup>, Sylwia Lew-Kojrys<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii,

<sup>2</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: skupien@uwm.edu.pl

Grzyby z rodzaju *Cryptococcus* (*C.*) występują na całym świecie w środowisku naturalnym. Do rodzaju tego zaliczane są liczne gatunki, wśród których najważniejsze znaczenie jako oportunistyczny patogen ma *C. neoformans*. Kryptokokoza występuje prawie u wszystkich gatunków zwierząt, znacznie częściej diagnozowana jest jednak u kotów niż u psów. Do zakażenia dochodzi najczęściej drogą aerogenną, a najpowszechniejszym źródłem jest gleba zawierająca odchody gołębi. W przypadku psów do zakażenia dochodzi głównie u młodych zwierząt, szczególnie predysponowane wydają się psy ras dużych [1]. Objawy kliniczne dotyczyć mogą początkowo układu oddechowego, prowadzą jednak na ogół do rozsianej kryptokokozy obejmującej ośrodkowy układ nerwowy i gałkę oczną.

**Opis przypadku:** Pies, maltańczyk, samiec, wiek 2 lata. Pacjent zgłosił się ze względu na utrzymujące się podwyższenie temperatury wewnętrznej ciała do 39,6°C, nieżyt górnych dróg oddechowych z wypływem z nosa oraz znaczne powiększenie węzłów chłonnych podżuchwowych. U psa wykonano wymaz z gardła oraz posiew z antybiogramem. Badanie hodowlane wykazało obfity wzrost *Staphylococcus spp.* Podjęto leczenie przeciwbakteryjne według antybiogramu, uzyskując poprawę stanu klinicznego. Po 10 dniach od zakończenia leczenia wystąpiło ponownie powiększenie węzłów chłonnych podżuchwowych, ropny wypływ z lewego nozdrza oraz krwawienie z nosa. Pojawiły się również objawy napadowego kichania i pocierania nosem o przeszkody. Podjęto decyzję o wykonaniu badań obrazowych – wykonano RTG jam nosowych oraz rinoskopię. Badanie radiologiczne nie wykazało zmian, natomiast w badaniu rinoskopowym stwierdzono zapalenie błony śluzowej jam nosowych z obecnością zmian ziarniniakowych. Ze względu na podejrzenie procesu grzybiczego podczas rinoskopii pobrano wymaz z nosa oraz bioptat błony śluzowej, a także wykonano biopsję cienkoigłową z powiększonego węzła chłonnego. Badaniem mikroskopowym stwierdzono obecność licznych blastospor grzybiczych, jednak badanie hodowlane nie wykazało wzrostu drobnoustrojów o cechach grzybów. Ze względu na utrzymujące się objawy kliniczne zdecydowano o usunięciu chirurgicznym powiększonego węzła chłonnego i wykonaniu badań histopatologicznych oraz ponownie badań hodowlanych pobranego materiału. W pobranych wycinkach wykazano obecność licznych spor grzybiczych oraz zanik utkania limfatycznego. Badaniem mykologicznym stwierdzono wzrost grzybów *C. neoformans*. Zgodnie z wykonanym mykogramem rozpoczęto leczenie psa, podając ketokonazol w dawce 10 mg/kg 2 x dziennie z posiłkiem oraz wykonując nebulizację jam nosowych roztworem enilikonazolu. Po miesiącu leczenia uzyskano nieznaczne zmniejszenie węzłów chłonnych podżuchwowych. Po kolejnych 10 dniach u psa pojawiły się objawy neurologiczne: otępienie, bezwolne oddawanie kału, parcie na przeszkody, bezcelowe poruszanie oraz zaburzenia widzenia. Podjęto decyzję o wykonaniu badania MRI, w wyniku którego stwierdzono wzmocnienie sygnału w obrębie opon mózgowo-rdzeniowych i zakrętów istoty szarej oraz hiperintensywną zmianę w obrębie skrzyżowania nerwu wzrokowego. Ze względu na niekorzystne rokowanie podjęto decyzję o eutanazji psa. Na podstawie wykonanych badań histopatologicznych OUN stwierdzono rozsianą kryptokokozę.

**Omówienie:** Rozpoznanie kryptokokozy u psów może nastęrczać znaczne trudności ze względu na niecharakterystyczne objawy kliniczne oraz stosunkowo rzadkie występowanie, ale również z powodu fałszywie negatywnych wyników badań hodowlanych. Opóźnienie rozpoznania może, tak jak w opisanym przypadku, prowadzić do opóźnienia leczenia i rozprzestrzenienia się procesu chorobowego, czego wynikiem jest kryptokokoza układu nerwowego prowadząca do śmierci zwierzęcia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Jacobs G.J., Medleau L., 1998. Cryptococcosis, [in:] Greene CE: Infectious Diseases of the Dog and Cat. WB Saunders, Philadelphia: 383–390.





## WPŁYW OSOCZA NASIENIA I ANTYOKSYDANTÓW: KATALAZY I N-ACETYLO-L-CYSTEINY NA WŁAŚCIWOŚCI PLEMNIKÓW PSA W NASIENIU PODDANYM KONSERWACJI W STANIE PŁYNNYM

### THE INFLUENCE OF SEMINAL PLASMA AND ANTIOXIDANTS: CATALASE AND N-ACETYL-L-CYSTEINE ON THE CHARACTERISTICS OF CHILLED DOG SEMEN

Wojciech Niżański<sup>1</sup>, Agnieszka Partyka<sup>1</sup>, Marta Gotowiecka<sup>1</sup>, Agnieszka Antończyk<sup>1</sup>, Hanna Mila<sup>1</sup>, Rafał Strzeżek<sup>2</sup>, Magdalena Koziorowska-Gilun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Katedra Biochemii i Biotechnologii Zwierząt, ul. Oczapowskiego 5, 10-718 Olsztyn, e-mail: wojciech.nizanski@up.wroc.pl

Dane dotyczące statusu antyoksydacyjnego plemników i osocza nasienia psów są ubogie. Dodatek różnych antyoksydantów na jakość nasienia daje niejednoznaczne wyniki. Ponadto rola osocza nasienia psów w obronie antyoksydacyjnej nie jest wyjaśniona, ale usuwanie osocza przed procesem konserwacji poprawia jej wyniki w ocenie *in vitro* [4]. Z drugiej strony istnieją dane opisujące korzystny wpływ dodatku osocza nasienia do dawki inseminacyjnej deponowanej w układzie rozrodczym suk na wyniki unasienniania [5].

**Cel pracy:** Ocena jakości nasienia psów poddanego konserwacji w stanie płynnym w warunkach inkubacji plemników z antyoksydantami: katalazą i N-acetylo-L-cysteina, w obecności osocza i po jej pozabawieniu.

**Materiał i metody:** Badano 60 ejakulatów pobranych od 6 zdrowych, płodnych psów w wieku 2–6 lat. Każdorazowo nasienie było łączone i dzielone na próbkę A (dodatek osocza) i próbkę B (wirowanie-usuwanie osocza). Próbki A i B były następnie rozrzedzane w medium opartym na buforze Tris (próbka A1, B1), medium Tris+ katalaza (próbka A2, B2) i medium Tris+ N-acetylo-L-cysteina (próbka A3, B3). Rozrzedzone nasienie było schładzane przez 90 min do temperatury 5°C. Ruchliwość plemników oceniano w dniu 0. i dniu 5. za pomocą analizatora komputerowego IVOS system ver. 12.2l (Hamilton Thorne Biosciences, MA, USA). Ocenie poddawano następujące parametry: całkowitą ruchliwość MOT, ruch postępowy PMOT, prędkość po torze przybliżonym VAP, prędkość wzdłuż toru rzeczywistego VCL, prędkość po torze prostym VSL, częstotliwość bocznych uderzeń główki BCF, amplitudę bocznych odchyłeń ALH, prostotę STR, liniowość LIN, populację komórek o ruchu szybkim RAPID. Do oceny nasienia użyto również cytometru przepływowego FACSCalibure (Becton Dickinson, CA, USA). Do oceny ciągłości błony komórkowej użyto barwników fluorescencyjnych SYBR-14/PI. Barwniki PNA-Alexa Fluor/PI zastosowano w celu określenia ciągłości błon akrosomalnych. Zmiany apoptotyczne oceniano przy wykorzystaniu Annexin-V/PI a barwnik JC-1 został użyty do określenia aktywności mitochondriów. W celu oceny nasilenia peroksydacji lipidów w błonach plemników wykorzystano fluorochrom C<sub>11</sub>-BODIPY<sup>581/59</sup>.

**Wyniki i omówienie:** Wartości PMOT i RAPID w dniu 0 były istotnie wyższe w grupie A (66,3±12,9 i 74,10±14,0) niż w B (52,30±16,5 i 57,70±18,7). Przeciwnie, w dniu 5. PMOT był istotnie wyższy w grupie B1 niż A1 (77,9±10,1 vs. 62,5±17,4). Odsetek plemników z zachowaną ciągłością plazmolemy w dniu 0 w grupie A i B wynosił: 90,1±3,7 i 85,7±6,9, a odsetek plemników żywych z prawidłowym akrosomem 86,3±3,1 i 83,9±2,9. Nie odnotowano istotnych różnic w dniu 5. w zakresie ciągłości plazmolemy, ciągłości akrosomów i nasilenia peroksydacji lipidów. Odsetek plemników z niską aktywnością mitochondriów w dniu 5. był najniższy w grupie A1, podczas gdy wartości najwyższe aktywności odnotowano w grupie A2 i B2. Wyniki potwierdziły korzystny wpływ usuwania osocza nasienia na właściwości plemników w warunkach inkubacji *in vitro*. Na uwagę zasługuje przejściowy spadek ruchliwości plemników w dniu rozrzedzenia nasienia pozbawionego osocza. Dodatek antyoksydantów nie zmienia parametrów ruchliwości, ciągłości błon, ciągłości akrosomów i nasilenia peroksydacji lipidów. Wykazano jednak, że dodatek katalazy do nasienia zwalnia spadek aktywności mitochondriów w plemnikach psa poddanych inkubacji przez 5 dni.

Praca finansowana przez MNiSW / NCN – N N308 573339.



## ANALIZA PARAMETRÓW HEMATOLOGICZNYCH I BIOCHEMICZNYCH U PSÓW PODDANYCH KARDIOWERSJI ELEKTRYCZNEJ MIGOTANIA PRZEDSIONKÓW. BADANIA WSTĘPNE

### ANALYSIS OF HEMATLOGICAL AND BIOCHEMICAL BLOOD PARAMETERS IN DOGS AFTER ELECTRICAL CARIOVERSION OF ATRIAL FIBRILLATION IN DOGS. PRELIMINARY STUDY

Noszczyk-Nowak Agnieszka<sup>1</sup>, Janiszewski Adrian<sup>2</sup>, Cepiel Alicja<sup>1</sup>, Staszczuk Maciej<sup>1</sup>,  
Paśławska Urszula<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytety Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław

<sup>2</sup>Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy, ul. Kamińskiego 73a, 51-124 Wrocław, e-mail: agnieszka@poczta.onet.pl

Kardiowersja elektryczna jest procedurą terapeutyczną stosowaną w celu konwersji różnego rodzaju arytmii do rytmu zatokowego. Metoda ta jest stosowana w przywracaniu rytmu zatokowego u psów z migotaniem przedsionków [2]. Wpływ energii elektrycznej użytej w trakcie kardiowersji na erytrocyty nie jest w pełni wyjaśniony. Są doniesienia o liczbie erytrocytów po kardiowersji elektrycznej u ludzi [1], problem ten nie był dotychczas badany u psów.

**Cel badań:** Ocena kardiowersji elektrycznej na wybrane parametry układu czerwokrwinkowego.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono u 6 psów z samoistnym migotaniem przedsionków (lone AF) ras dużych i olbrzymich (2 owczarków niemieckich, 2 bernardynów, 1 wilczarza irlandzkiego i 1 mieszańca), o masie ciała od 30 do 64 kg. Kardiowersję elektryczną przeprowadzono w znieczuleniu ogólnym infuzyjnym (propofol, fentanyl) po premedykacji medetomidyną i midazolamem. Kardiowersję wykonano energią dwufazową 70–300 J (difibrylator Lifepak 12 Medtronic). Krew obwodową do oceny erytrocytów pobierano:

T0 – w trakcie trwania migotania przedsionków, przed wykonaniem kardiowersji

T1 – 30 min po wykonaniu kardiowersji elektrycznej

Oceniano liczbę erytrocytów (RBC) i parametry czerwokrwinkowe (Hb, Ht, MCV, MCH, MCHC, RDW).

Po 3 h oceniano bilirubinę całkowitą i bezpośrednią.

**Wyniki i omówienie:** Kardiowersja elektryczna była skuteczna w 5/6 przypadkach. Maksymalna energia użyta podczas kardiowersji wyniosła 300 J, średnia 210 J. Po wykonaniu kardiowersji elektrycznej nie stwierdzono istotnych zmian w liczbie erytrocytów (6,58 vs 6,51 mln/ $\mu$ l) ani w parametrach czerwokrwinkowych. Nie odnotowano również zmian stężeniu w bilirubiny całkowitej (3,52 vs 3,37 mg/dl) i bezpośredniej (1,9 vs 1,85 mg/dl). Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że kardiowersja elektryczna u psa nie powoduje lizy krwinek czerwonych, jednak ze względu na wstępny charakter obserwacji wyniki te wymagają powtórzenia na większej grupie psów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Makowski M., Masiarek K., Fic A., Szymańska K., Lubiński A., Baj Z., 2010. Liczba erytrocytów w następstwie kardiowersji elektrycznej u pacjentów z samoistnym migotaniem przedsionków. *Kardiologia Polska*, 68, 462.
- [2] Noszczyk-Nowak A., 2012. P-wave dispersion in prediction of maintenance of sinus rhythm after an electrical cardioversion of atrial fibrillation in dogs. *Bull. Vet. Ins. Pul.*, 56, 2, 99–102.



## CEUS (ULTRASONOGRAFIA WZMACNIANA KONTRASTEM) W RÓŻNICOWANIU ZMIAN OGNISKOWYCH W WĄTROBIE U PSÓW

### CEUS (CONTRAST-ENHANCED ULTRASONOGRAPHY) IN CANINE FOCAL LIVER LESIONS DIFFERENTIATION

Marcin Nowicki, Andrzej Rychlik, Michał Wdowiak, Renata Nieradka, Małgorzata Kander

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Diagnostyki Klinicznej, Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, e-mail: marcin.nowicki@uwm.edu.pl

Zmiany ogniskowe wątroby występują dość często u psów – powyżej 6. roku życia do 70% przypadków – powyżej 14 lat do 100%. Często są to tzw. łagodne guzy (najczęściej guzowaty przerost komórek wątrobowych – FNH *focal nodular hyperplasia*), istnieje jednak szereg innych form zmian ogniskowych wątroby tj. pierwotne zmiany nowotworowe i wtórne zmiany nowotworowe (guzy przerzutowe). Konwencjonalne USG wykonywane u starszych psów nie odpowie na pytanie, czy są to zmiany o charakterze nowotworowym, a tym bardziej nie pozwoli na zróżnicowanie zmian łagodnych od złośliwych. CEUS, czyli ultrasonografia wzmocniona kontrastem potrafi wykazać zmiany niewidoczne w USG, a analiza kinetyki napływu i wypływu podanego kontrastu może określić charakter zmiany jako nienowotworowy, nowotworowy łagodny bądź złośliwy.

**Cel badań:** Ocena skuteczności badania CEUS w różnicowaniu zmian ogniskowych łagodnych i złośliwych w wątrobie u psów.

**Materiał i metody:** Badania wykonano u 6 psów obu płci o wadze od 7 do 25 kg w wieku 7–15 lat, różnych ras, będących pacjentami Polikliniki Weterynaryjnej UWM. Wszystkie psy miały wykonane pełne badanie ultrasonograficzne jamy brzusznej i wykazywały obecność co najmniej jednej zmiany ogniskowej wątroby w klasycznym obrazie B-Mode. Badanie ultrasonograficzne wykonano wysokiej klasy aparatem ALOKA PROSO-UND SSD-4000 SV. Do badania CEUS użyto środka kontrastowego II generacji SonoVue® (Bracco International B.V. Holandia) w dawce 0,5 ml do 20 kg m.c. i 1 ml powyżej 20 kg m.c. W razie uzyskania słabszego wzmocnienia iniekcję kontrastu powtarzano. W celu zweryfikowania uzyskanych wyników od każdego psa pobierano próbkę guza za pomocą biopsji pod kontrolą USG i przekazywano do badania histopatologicznego.

**Wyniki i omówienie:** U czterech psów rozpoznano łagodną hiperplazję guzkową (FNH), u dwóch pozostałych guzy złośliwe. Wśród nich stwierdzono jeden przypadek raka wątrobowokomórkowego (HCC *hepatocellular carcinoma*) i jeden przypadek przerzutowego naczyniakomięsa (HSA *hemangiosarcoma*). Kontrast podany dożylnie pozwala na ocenę trzech faz naczyniowych w czasie rzeczywistym – fazy tętnicznej (15–35 s), fazy wrotnej (35–90 s) i fazy mięsistej lub żylniej późnej (90–240 s). Charakterystykę zmiany dokonywano na podstawie stosunku jej echogeniczności do echogeniczności otaczających ją prawidłowych tkanek wątrobowych w 3 kolejno występujących po sobie fazach, kinetyce wzmocnienia oraz według wzoru naczyń tworzących zmianę. Na podstawie analizy uzyskanych obrazów stwierdzono, że wszystkie łagodne guzy charakteryzowały się izo- lub hiperechogenicznością w późnej fazie żylniej, natomiast guzy złośliwe w tej fazie były hipoechogenne. Dodatkowy element różnicujący zmiany łagodne i złośliwe stanowiła charakterystyka unaczynienia zmian lokalnych w wątrobie w fazie tętnicznej. W przypadku FNH widoczne było regularne unaczynienie guza, HCC charakteryzowało chaotyczne unaczynienie, a w przypadku HSA występowało unaczynienie w kształcie odgraniczonej obręczy. Cechy te umożliwiały wstępne rozpoznanie i różnicowanie zmian ogniskowych wątroby u psów, co pozytywnie zweryfikowały badania histopatologiczne. Nie odnotowano żadnych komplikacji związanych z podaniem środka kontrastowego. Przedstawione powyżej wstępne wyniki potwierdzają przydatność i praktyczne zastosowanie ultrasonografii wzmocnionej kontrastem w różnicowaniu zmian ogniskowych w wątrobie u psów, a uzyskane wyniki korespondują z podobnymi opisanymi przez innych autorów [1, 2].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kutara K., Asano K., Kito A., Teshima K., Kato Y., Sasaki Y., Edamura K., Shibuya H., Sato T., Hasegawa A., Tanaka S., 2006. Contrast harmonic imaging of canine hepatic tumors. *J. Vet. Med. Sci.* 68 (5), 433–438.
- [2] O'Brien R.T., 2007. Improved detection of metastatic hepatic hemangiosarcoma nodules with contrast ultrasound in three dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound.*, 48, 146–148.



## PRZYDATNOŚĆ STOSOWANIA $\alpha$ -2 MIMETYKÓW (MEDETOMIDYNY) W POZYSKI- WANIU NASIENIA DO PROCEDUR BIOTECHNOLOGICZNYCH OD KOTA DOMOWEGO

### THE USEFULNESS OF $\alpha$ -2 MIMETIC (MEDETOMIDINE) IN OBTAINING SEMEN FROM DOMESTIC CAT FOR BIOTECHNOLOGICAL PROCEDURES

Małgorzata Ochota, Wojciech Nizański, Agnieszka Partyka

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław, e-mail: malgorzata.ochota@up.wroc.pl

Jedno z ograniczeń w rozwoju biotechnik rozrodu kota domowego stanowiło, jak dotąd, opracowanie niezawodnej metody pozwalającej na wielokrotne pozyskiwanie nasienia od konkretnego samca. Dotychczas nasienie było pozyskiwane z najądrzy po uprzedniej kastracji, na drodze elektroejakulacji lub przy użyciu sztucznej pochwy. Ponieważ ta ostatnia metoda wymaga obecności samicy w rui oraz treningu, a mimo to nie zawsze jest skuteczna, nie może być wykorzystywana na szerszą skalę, zwłaszcza w przypadku kotów hodowlanych. Od niedawna próbuje się pobierać nasienie u kocurów z cewki moczowej, po uprzednim zastosowaniu  $\alpha$ -2 mimetyku (medetomidyny), leku powszechnie stosowanego do sedacji w praktyce weterynaryjnej.

**Cel badań:** Sprawdzenie przydatności podawania  $\alpha$ -2 mimetyku (medetomidyny) do pozyskiwania nasienia z cewki moczowej u kota domowego.

**Materiał i metody:** Grupę badawczą stanowiło 50 kocurów w wieku od 6 miesięcy do 5 lat. Medetomidynę w dawce 140  $\mu$ g/kg m.c. podawano domięśniowo, a po uzyskaniu efektu działania  $\alpha$ -2 mimetyku do cewki moczowej wprowadzano uprzednio przygotowany kateter, uważając, aby nie wprowadzić go do pęcherza moczowego. Pozyskane próbki nasienia zawieszano w 0,2 ml buforu Tris z fruktozą i kwasem cytrynowym, a następnie oceniano ich koncentrację, ruchliwość, żywotność i morfologię. Próbki nasienia w dalszej kolejności rozrzedzono w buforze Tris-kwas cytrynowy-fruktoza, żółtko (20%), glicerol (6%) i Equex STM (1%), chłodzono i ekwilibrowano, a następnie mrożono w 0,25 ml słomkach Cassou w ciekłym azocie. Badane próbki rozmrażano po 14 dniach i ponownie oceniano.

**Wyniki i omówienie:** W przeprowadzonych badaniach udało się pozyskać nasienie od 45 kocurów, co stanowiło 90% objętych doświadczeniem samców. Średnio z cewki moczowej uzyskano 16,7  $\mu$ l (5–40  $\mu$ l) nasienia świeżego. Średnia koncentracja plemników w świeżych ejakulatach wynosiła  $409,2 \times 10^6$  ( $\pm 1460,5$ ), a odsetek plemników o ruchu prawidłowym 72,3%. Żywotność plemników wynosiła średnio 78,6%, a odsetek plemników morfologicznie prawidłowych 48,9%. Natomiast po rozmrożeniu średnia ruchliwość badanych próbek wynosiła 49%, odsetek plemników żywych 46%, a prawidłowych morfologicznie 49,5%. Nasienie rozmrożone wykazywało statystycznie istotny spadek odsetka plemników zarówno ruchliwych, jak i żywych, a wzrost liczby plemników z kroplą bliższą i wadami akrosomu. Odsetek plemników prawidłowych nie różnił się statystycznie w próbkach nasienia świeżego jak i mrożonego.

W przypadku kota domowego, ze względu na obiektywne trudności w pozyskaniu materiału badawczego, nadal niewiele jest prac dotyczących jakości nasienia świeżego i skuteczności jego przechowywania w niskich temperaturach. Uzyskane wyniki wskazują, że zastosowanie medetomidyny u kota domowego wydaje się być skuteczną i powtarzalną metodą pozwalającą na pozyskanie dobrej jakości nasienia, które może być następnie poddane kriokonserwacji lub zastosowane do procedur biotechnologicznych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Zambelli D., Prati F., Cunto M., Iacono E., Merlo B., Quality and in vitro fertilizing ability of cryopreserved cat spermatozoa obtained by urethral catheterization after medetomidine administration. *Theriogenology*, 69, (4), 485–490.
- [2] Axner E. and Linde-Forsberg C., 2002. Semen Collection and Assessment, and Artificial Insemination in the Cat (<http://www.ivis.org/advances/Concannon/axner/IVIS.pdf>).

Opracowanie wykonane w ramach projektu finansowanego przez MNiSW / NCN N N308 576540.





## ZMIANY HISTOPATOLOGICZNE W NARZĄDACH WEWNĘTRZNYCH W PRZEBIEGU ZARAŻENIA *DIROFILARIA REPENS* U PSÓW

### HISTOPATHOLOGICAL LESIONS IN INTERNAL ORGANS DURING *DIROFILARIA REPENS* INFECTION IN DOGS

Barbara Osińska, Izabella Dolka, Aleksander W. Demiaszkiewicz, Jacek Lachowicz

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa

<sup>2</sup>Polska Akademia Nauk, Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego w Warszawie, ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa, osinskab@op.pl

*Dirofilaria repens* jest nicieniem występującym w tkance podskórnej u psów i gatunków pokrewnych. Żywicielem przypadkowym może być człowiek. Dorosłe samice nicieni rodzą w miejscu osiedlenia liczne mikrofilarie. Żywicielem pośrednim i przenosicielem nicieni są liczne gatunki komarów. Do niedawna opisywane były przypadki dirofilariozy pochodzące z terenu Europy południowej, Azji, Afryki, Australi, południowo-wschodniej części Stanów Zjednoczonych [2, 3]. Od 2005 r. pojawiły się doniesienia o występowaniu *D. repens* w Słowacji, Niemczech, Rosji, Republice Czech i Polsce [1, 4, 5].

**Cel pracy:** Ocena zmian histopatologicznych w narządach wewnętrznych związanych z obecnością mikrofilarii.

**Materiał i metody:** Wykonano sekcje 2 psów. Pies nr 1, samiec, rasy mix, w wieku 8 lat – leczony przez 5 tygodni, ze względu na zły stan kliniczny został poddany eutanazji. Pies nr 2, samiec, Cane corso, w wieku 11 lat – padł nie leczony. Właściciel podejrzewał otrucie.

Do badań histopatologicznych pobrano wycinki narządów wewnętrznych (wątrób, nerek, płuc i serca) dwóch psów utrwalone w 10% zbuforowanej formalinie. Wykonano preparaty histopatologiczne, które barwiono metodami: H&E, van Gieson, AB-PAS i von Kossa. Ponadto do badań parazytologicznych pobrano krew oraz wycinki skóry i tkanki podskórnej zawierającej nicienie.

**Wyniki i omówienie:** Badania parazytologiczne krwi wykazały obecność mikrofilarii *D. repens*. Na podstawie oceny morfometrycznej nicieni z tkanki podskórnej rozpoznano dorosłe osobniki *D. repens* (♂, ♀). Badania mikroskopowe wycinków narządów wewnętrznych potwierdziły obecność mikrofilarii w naczyniach krwionośnych oraz w mięszu tkanek. Zmiany histopatologiczne w wątrobach obu psów stwierdzono cechy marskości (*cirrhosis hepatis*). W nerkach psów wykazano zmiany zapalne kłębków nerkowych (*glomerulonephritis*) i ogniska wapnienia. W płucach wykazano liczne uszkodzenia ścian pęcherzyków przez mikrofilarie i ogniska niedodmy płuc. Zmianom tym towarzyszyły nacieki komórek zapalnych z obecnością eozynofili. W świetle naczyń obserwowano zakrzepy. W mięśniach sercowych stwierdzono zwyrodnienie i ogniskową martwicę włókien mięśniowych.

W tkance podskórnej, gdzie występowały dorosłe nicienie, zarejestrowano jedynie przekrwienie. Badanie histopatologiczne wycinka skóry nie wykazało zmian, które zwykle są opisywane w przypadku dirofilariozy. Uszkodzenia narządów mięszowych potwierdzone w badaniu mikroskopowym u badanych psów były spowodowane głównie przez mikrofilarie, a nie osobniki dorosłe.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Demiaszkiewicz A.W., Polańczyk G., 2010. Pierwszy w Polsce przypadek *Dirofilaria repens* u psa. Magazyn Weterynaryjny, 19, 154, 254–256.
- [2] Pampiglione S., Canestri Trotti G., Rivasi E., 1995. Human dirofilariasis due to *Dirofilaria (Notchtiella) repens*: a review of world literature. Parassitologia, 37, 149–193.
- [3] Pampiglione S., Rivasi F., 2000. Human dirofilariasis due to *Dirofilaria (Notchtiella) repens*: an update of world literature from 1995 to 2000. Parassitologia, 42, 231–254.
- [4] Svobodova Z., Svobodova V., Genchi C., Forejtek P., 2006. The first report of autochthonous dirofilariosis in dogs in the Czech Republic. Helminthologia, 43, 4, 242–245.
- [5] Żarnowska-Prymek H., Cielecka D., Salamatin R., 2008. Dirofilarioza – *Dirofilaria repens* – po raz pierwszy opisana u polskich pacjentów. Przegl. Epidemiol., 62, 547–551.





## UOGÓLNIONA KRYPTOKOKOZA U PSA MALTAŃCZYKA

## GENERALIZED CRYPTOCOCCOSIS IN A MALTANESE DOG

Iwona Otrocka-Domagala<sup>1</sup>, Katarzyna Paździor<sup>1</sup>, Marzena Wiśniewska<sup>1</sup>, Michał Gesek<sup>1</sup>,  
Kwiatkowska Miłoslawa<sup>2</sup>, Tadeusz Rotkiewicz<sup>1</sup>, Andrzej Pomianowski<sup>2</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Anatomii Patologicznej, ul. Oczapowskiego 13 bl D, 10-719 Olsztyn, <sup>2</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, e-mail: i.otrocka-domagala@uwm.edu.pl

Kryptokokoza jest chorobą systemową o przebiegu podostrym lub przewlekłym, występującą u psów i kotów. Chorobę wywołują saprofityczne grzyby drożdżopodobne z rodzaju *Cryptococcus*, wśród których najbardziej chorobotwórcze są gatunki *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* oraz var. *gatti*. Najczęściej choroba rozwija się u osobników z obniżoną odpornością, np. po leczeniu kortykosteroidami lub działaniu czynników immunosupresyjnych. Komórki drożdżaków mają zmienną średnicę od 2–20 µm, kształt owalny, eliptyczny albo półkolisty, są otoczone grubą mukopolisacharydową otoczką, która w barwieniu hematoksyliną i eozyzną, widoczna jest w postaci jasnego pasa „halo”. Otoczka chroni grzyby przed fagocytozą. Najczęściej grzyby wnikają do organizmu przez błonę śluzową jamy nosowej, rzadziej płuca i przewód pokarmowy. Dalej drogą naczyń krwionośnych i limfatycznych dostają się do narządów wewnętrznych, wywołując zapalenia ziarniakowe oraz ogniska martwicy.

**Opis przypadku:** Przypadek dotyczy szesnastomiesięcznego psa, samca, rasy Maltańczyk, który od trzech miesięcy wykazywał objawy zapalenia górnych dróg oddechowych, gorączkę i powiększone węzły chłonne. Pomimo leczenia (Cephalexin i Dexamethason) stan pacjenta pogarszał się, dodatkowo pojawiły się objawy nerwowe. Na podstawie badania rezonansem magnetycznym oraz biopsji cienkoigłowej węzłów chłonnych, stwierdzono rozsianą kryptokokozę. Z uwagi na brak poprawy stanu zdrowia pies został poddany eutanazji. Podczas badania sekcyjnego pobrano wycinki kości sitowej, klinowej, mózgu, mózdzku, mięśni okolicy głowy, płuc, węzłów chłonnych powierzchownych i głębokich, wątroby, przewodu pokarmowego, nerek, śledziony oraz mięśnia sercowego, które utrwalono w buforowanej 10% formalinie i zatapiano w bloczki parafinowe. Uzyskane skrawki barwiono hematoksyliną i eozyzną (HE) oraz mucycarminem wg Southgate.

**Wyniki i omówienie:** Badaniem histopatologicznym we wszystkich pobranych tkankach stwierdzono liczne, różnej wielkości ogniska martwicowo-rozmiękczeniowe z obecnością blastocyst o średnicy od 2 do 10 µm, kształtu okrągłego, owalnego i półkolistego z jasnym pasem „halo”, który w barwieniu mucycarminem wybarwiał się intensywnie na różowo. W ogniskach wykazano pojedyncze, jednojądrzaste komórki zapalne. W kości klinowej i sitowej stwierdzono zanik beleczek kostnych, rozszerzenie jam szpikowych z szpikiem żółtym, a w oponach mózgu zapalenie surowicze. W płucach wykazano surowiczo-nieżytowe zapalenie, rozedmę pęcherzykową, przekrwienie i obrzęk. W węzłach chłonnych i śledzionie stwierdzono zanik utkania limfatycznego i obecność licznych grzybów. Kryptokokoza u immunokompetentnych psów występuje najczęściej około trzeciego roku życia [1]. Zmiany dotyczą zwykle ośrodkowego układu nerwowego, oczu, rzadziej skóry [2, 3]. Uogólniona kryptokokoza występuje rzadko i zwykle kończy się śmiercią. Badany pies był młody, nie był leczony przed wystąpieniem pierwszych objawów choroby, co sugeruje, że przyczyną uogólnionej kryptokokozy była wrodzona niewydolność układu immunologicznego.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Honscho C.S., Mine S.Y., Oria A.P., Benato N., Camacho A.A., Alessi A.C., Laus J.L., 2003. Generalized systemic cryptococcosis in a dog after immunosuppressiv corticotherapy Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 55, 155–159.
- [2] Jacobs G.J., Greene C.E., Medleau L., 1998. Feline and canine cryptococcosis WALTHAM FOCUS™ 8, 21–27.
- [3] Sykes J.E., Sturges B.K., Cannon M.S., Gericota B., Higgins R.J., Trivedi S.R., Dickinson P.J., Vernau K.M., Meyer W., Wisner E.R., 2010. Clinical signs, imaging features, neuropathology, and outcome in cats and dogs with central nervous system Cryptococcosis from California J. Vet. Intern. Med. 24, 1427–1438.



## ZASTOSOWANIE LASERA CO<sub>2</sub> DO USUWANIA GUZÓW SKÓRY U PSÓW

### THE USE OF CO<sub>2</sub> LASER IN SURGICAL TREATMENT OF SKIN TUMORS IN DOGS

Joanna Paczuska, Zdzisław Kiełbowicz, Maciej Kiełbowicz, Marcin Nowak, Rafał Ciaputa

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: jopaczuska@gmail.com

Nowotwory skóry i tkanki podskórnej stanowią najliczniejszą grupę nowotworów występujących u psów [1]. Chirurgiczne leczenie opiera się na dokładnym usunięciu guza wraz z odpowiednim marginesem tkanki. Laser CO<sub>2</sub> umożliwia podobnie jak skalpel precyzyjne cięcie tkanek miękkich. Jest to związane z wysokim stopniem absorpcji promieniowania z zakresu podczerwieni, emitowanego przez ten laser. Ponadto posiada on unikalne właściwości, które mogą istotnie wpłynąć na jakość i skuteczność zabiegu [2].

**Cel pracy:** Przedstawienie techniki operacyjnej usuwania guzów skóry u psów za pomocą lasera CO<sub>2</sub> z zastosowaniem trybu działania ciągłego i ultra puls.

**Materiał i metody:** Zabieg został przeprowadzony u 10 psów, u których zdiagnozowano zmiany nowotworowe w obrębie skóry. Do wycięcia guza został wykorzystany laser chirurgiczny CO<sub>2</sub> Eraser-C emitujący promieniowanie o długości fali 10,6 μm i mocy oddziaływania na tkankę od 2 do 25 W, pracujący w trybie ciągłym, pulsacyjnym oraz ultra puls. W pięciu przypadkach do usunięcia zmiany wykorzystano technikę polegającą na ablacji tkanki nowotworowej w trybie ciągłym i ultra puls. W tych przypadkach rana nie wymagała zszycia. W pozostałych przypadkach zmiany zostały wycięte w trybie ciągłym, a następnie zszyte za pomocą niewchłanianego materiału monofilamentowego.

**Wyniki i omówienie:** Zastosowanie lasera w przypadku guzków skóry, których średnica nie przekracza 0,5 cm, umożliwia przeprowadzenie szybkiego zabiegu polegającego na ablacji guza. Prawidłowe gojenie się rany pooperacyjnej jest możliwe jedynie w przypadku, gdy obszar zwęglenia tkanki i hipertermii jest niewielki. W tym celu istotne jest odpowiednie dostosowanie parametrów. Najbardziej zadowalający efekt otrzymano przy zastosowaniu trybu ultra puls, zapewniającym dłuższy czas relaksacji termicznej. W przypadku większych zmian nowotworowych zastosowanie wiązki ciągłej o mocy 5W umożliwiło precyzyjne wycięcie zmiany. Czas gojenia się rany był subiektywnie krótszy niż w stosunku do tradycyjnej metody.

Laser CO<sub>2</sub> poprzez swoją zdolność do koagulacji powoduje zamknięcie naczyń krwionośnych, naczyń limfatycznych oraz włókien nerwowych. Mniejsze krwawienie w polu operacyjnym zapewnia lepszą widoczność, rana chirurgiczna wykonana laserem charakteryzuje się mniejszym odczynem zapalnym, obrzękiem oraz mniejszą bolesnością [3].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Nowak M., Madej J., Ciaputa R., Poradowski D., 2010. Manifestation Of Tumours In Domestic Animals In Lower Silesia In 2005–2000. Bull. Vet. Inst. Pulawy 54, 229–236.
- [2] Bartels K.E., 2002. Lasers in veterinary medicine – where have we been, and where are we going? Vet. Clin. Small. Anim., 32, 495–515.
- [3] Holt L.T., Mann F.A., 2002. Soft tissue application of lasers. Vet. Clin. Small Anim., 325, 69–599.



## AKTYWNOŚĆ PROLIFERACYJNA KOMÓREK W MASTOCYTOMACH U PSÓW

### PROLIFERATIVE ACTIVITY IN CANINE MAST CELL TUMOURS IN DOGS

Katarzyna Paździor, Iwona Otrocka-Domagąła, Michał Gesek, Marzena Wiśniewska,  
Tadeusz Rotkiewicz

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Anatomii Patologicznej, ul. Oczapowskiego 13 bl. D, 10-719 Olsztyn, e-mail: katarzyna.pazdzior@uwm.edu.pl

Guzy wywodzące się z komórek tłuszczowych (*mastocytoma, mast cell tumour*) występują najczęściej u psów w skórze i stanowią około 7–21% wszystkich guzów skórnych. Lokalizują się na tułowiu (50–60%), kończynach (25–40%), rzadziej na głowie i szyi (10%) [1]. Najczęściej mają formę pojedynczego guzka, w około 11–14% przypadków stwierdza się guzki mnogie [2]. Mastocytoma występuje w trzech formach zróżnicowania histologicznego, tj. 1 – dobrze zróżnicowana, której komórki wykazują nieliczne figury mitotyczne i wyraźnie wybarwiają się ziarnistości bazofilne, 2 – pośrednia, oraz 3 – niezróżnicowana charakteryzująca się obecnością komórek anaplastycznych, które wykazują liczne figury mitotyczne i niewielką liczbą ziarnistości bazofilnych w cytoplazmie. Formy zróżnicowania histologicznego mastocytomy korelują z rokowaniem [1]. Określenie aktywności proliferacyjnej komórek nowotworowych i formy zróżnicowania histologicznego mają duże znaczenie prognostyczne i w zakresie wyboru metody leczenia [3].

**Materiał i metody:** Badanie histopatologiczne oraz immunohistochemiczne przeprowadzono na skrawkach parafinowych nowotworów komórek tłuszczowych pochodzących od ośmiu psów. Charakterystykę mikroskopową komórek określano w preparatach barwionych hematoksyliną i eozyną oraz błękitem toluidyny w kierunku uwidocznienia ziarnistości bazofilnych. Wykonano badania immunohistochemiczne z użyciem panelu przeciwciał: MHCII (*major histocompatibility complex class II*), CD18 (*cluster of differentiation*), CD3 i CD79acy celem opracowania immunofenotypu komórek. Aktywność proliferacyjna komórek została oznaczona na podstawie ekspresji antygenu proliferujących komórek (PCNA) oraz antygenu jądrowego Ki67. Otrzymane wyniki zestawiono z typem złośliwości histologicznej guza wg klasyfikacji Patnaika [3].

**Wyniki i omówienie:** Komórki nowotworowe nie wykazywały ekspresji MHCII, CD3 oraz CD79acy. Ekspresja CD18 była zmienna, co stwierdzili także inni autorzy (4). Liczba komórek nowotworowych z różnymi ziarnistościami bazofilnymi była zmienna w zależności od stopnia zróżnicowania nowotworu, największa w mastocytomach wysoko zróżnicowanych, najniższa w mastocytomach anaplastycznych. Komórki nowotworowe wykazywały wysoką aktywność PCNA, niską Ki67 w zależności od stopnia zróżnicowania histologicznego. Komórki towarzyszące były reprezentowane w większości przez neutrofile CD18+, stwierdzono również liczne limfocyty T (CD3+) oraz B (CD79acy+). Liczne komórki towarzyszące wykazywały silną błonową ekspresję MHCII, co potwierdziły również badania innych autorów [4]. Przeprowadzone badania wykazały dużą przydatność zastosowanych testów do precyzyjnego klasyfikowania guzów wywodzących się z komórek tłuszczowych u psów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Welle M.M., Bley C.R., Howard J., Rufenacht S., 2008. Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Veterinary Dermatology*, 19, 6, 321–331.
- [2] Govier S.M., 2003. Principles of treatment for mast cell tumors. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18, 2, 103–106.
- [3] Patnaik A.K., Ehler W.J., MacEwen E.G., 1984. Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Veterinary Pathology*, 21:5, 469–474.
- [4] Fernandez N.J., West K.H., Jackson M.L., Kidney B.A., 2005. Immunohistochemical and histochemical stains for differentiating canine cutaneous round cell tumors. *Vet. Pathol.* 42(4), 437–45.
- [5] Sakai H., Noda A., Shirai N., Iidaka T., Yanai T., Masegi T., 2002. Proliferative activity of canine mast cell tumours evaluated by bromodeoxyuridine incorporation and Ki-67 expression. *Journal of Comparative Pathology*, 127: 4, 233–238.



## GENOTYPY *GIARDIA DUODENALIS* U PSÓW I KOTÓW Z OKOLIC WROCŁAWIA

### GENOTYPES OF *GIARDIA DUODENALIS* IN DOGS AND CATS FROM WROCLAW AND SURROUNDINGS

Jolanta Piekarska<sup>1</sup>, Joanna Bajzert<sup>2</sup>, Michał Gorczykowski<sup>1</sup>, Magdalena Wereszczyńska<sup>1</sup>,  
Magdalena Podkowik<sup>3</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów. Zakład Parazytologii, <sup>2</sup>Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej; Zakład Immunologii i Prewencji, <sup>3</sup>Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta. Zakład Higieny Surowców Zwierzęcych, ul. Norwida 31, e-mail: jolanta.piekarska@up.wroc.pl

Wiciowce *Giardia duodenalis* należą do najczęstszych pierwotniaków pasożytujących w przewodzie pokarmowym wielu gatunków ssaków, również człowieka. *Giardia* występuje w 2 postaciach: trofozoitu i cysty. Do zarażenia dochodzi poprzez spożycie cyst z wodą lub pokarmem bądź też bezpośrednio od zarażonego osobnika. Gatunek *Giardia duodenalis* wykazuje duże zróżnicowanie molekularne i obejmuje 7 podstawowych genotypów (A-G). U psów stwierdzono genotypy: A, B, C i D, u kotów: A i F. Genotypy A i B mają szeroki krąg żywicieli, występują również u człowieka i mają znaczenie zoonotyczne.

**Cel badań:** Genetyczna charakterystyka izolatów *Giardia* pochodzących od psów i kotów domowych z terenu Wrocławia i okolic oraz ocena zagrożenia zoonotycznego dla ludzi na badanym terenie.

**Materiał i metody:** Materiał do badań genetycznych stanowiły próbki kału 27 psów i 5 kotów domowych w wieku od 3 tygodni do 2 lat, w których wykryto obecność koproantygeny *Giardia duodenalis* testem immunoenzymatycznym SNAP *Giardia* (IDEXX). Zwierzęta pochodziły z terenu Wrocławia i okolic. DNA z próbek kału wyizolowano przy użyciu zestawu Genomic Mini AX STOOL (DNA-Gdańsk) po wcześniejszym zagełczeniu materiału metodą flotacji. Genotypowanie *Giardia* przeprowadzono techniką nested PCR, a powielanym fragmentem był gen kodujący białko β-giardinę. Parametry reakcji i specyficzne startery opracowano na podstawie badań Lalle i wsp. [1].

Uzyskany w pierwszej reakcji produkt PCR o długości 753 par zasad (bp) stanowił matrycę dla drugiej reakcji PCR, której produkt (511 bp) trawiono z użyciem enzymu restrykcyjnego BsuRI/HaeIII (Fermentas). Powstałe fragmenty DNA rozdzielano w 5% żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydyny. Wizualizację żelu wykonano z użyciem aparatu BioRad GelDoxXR. Wybrane produkty reakcji PCR (511 bp) poddano sekwencjonowaniu (Genomed).

**Wyniki i omówienie:** Reakcja nested PCR pozwoliła na wykrycie DNA *Giardia* w 27 z 32 badanych próbek kału (tj. u 22 psów i 5 kotów). W 22 próbkach kału psów stwierdzano obecność 19 genotypów C, 2 genotypów D oraz 1 genotyp mieszany C+D. U 4 kotów wykazano genotyp F a u jednego genotyp A. Analiza wyników sekwencjonowania potwierdziła wyniki reakcji nested PCR.

Uzyskane wyniki potwierdzają występowanie u psów w badanym regionie genotypów C i D natomiast u kotów genotypu F. Po raz pierwszy w Polsce wykazano występowanie u psów genotypów mieszanych C+D. Stwierdzenie obecności genotypu A pozwala przypuszczać, że zarażone zwierzęta domowe mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia ludzi.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Lalle M., Pozio E., Capelli G., Bruschi F., Crotti D., Caccio S.M., 2005. Genetic heterogeneity at the β-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. Int. J. Parasitol., 35, 207–213.
- [2] Xiao L., Fayer R., 2008. Molecular characterisation of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. Int. J. Parasitol. 38, 1239–55.





## WYSTĘPOWANIE PRZECIWCIAŁ SPECYFICZNYCH DLA SPUMAWIRUSA KOTÓW (FFV) W SUROWICY KOTÓW

### OCCURENCE OF FELINE SPUMAVIRUS (FFV) SPECIFIC ANTIBODIES IN CAT SERUM

Aneta Pluta<sup>1</sup>, Magdalena Materniak<sup>1</sup>, Anne Bleiholder<sup>3</sup>, Tadeusz Frymus<sup>2</sup>, Paweł Kita<sup>2</sup>,  
Martin Löchelt<sup>3</sup>, Kuźmak Jacek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Biochemii, magdalena.materniak@piwet.pulawy.pl

<sup>2</sup>Warszawski Uniwersytet Przyrodniczy

<sup>3</sup>German Cancer Research Center, Focus Infection and Cancer, Heidelberg

Spumawirusy należą do rodzaju *Spumavirus* rodziny *Retroviridae*. Zakażenia tymi wirusami są powszechne wśród różnych gatunków zwierząt, w tym u naczelnych, bydła, kotów i koni. Szacuje się, że 30–80% kotów zakażonych jest spumawirusem kotów (ang. *Feline foamy virus* – FFV). Najbardziej prawdopodobną drogą transmisji wirusa jest ślina, natomiast zakażenie ma charakter przewlekły z silnie rozwiniętą odpowiedzią immunologiczną, obecnością prowirusowego DNA i możliwością izolacji wirusa z krwi i narządów. Mimo że spumawirusy wykazują bardzo silny efekt cytopatyczny w hodowlach komórkowych *in vitro*, nie przypisano im zdolności wywoływania określonej choroby czy chociażby charakterystycznych symptomów zakażenia.

**Cel badań:** Określenie statusu serologicznego kotów domowych wobec FFV przy użyciu specyficznych antygenów wirusa. Ponadto, analizie poddano zależności pomiędzy zakażeniami FFV a wybranymi czynnikami demograficznymi i symptomami chorobowymi.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 157 surowic kocich zebranych w klinice weterynaryjnej SGGW w tym 73 (46,5%) pochodzące od kotów płci żeńskiej i 84 (53,3%) od kotów płci męskiej, w wieku od 1–204 miesięcy. Wszystkie zwierzęta poddano badaniu oceniającemu stan ich zdrowia oraz zebrano wywiad. Wykrywanie przeciwciał specyficznych dla antygenów Gag, Bet i Env FFV przeprowadzono testem GST-ELISA. Związek pomiędzy seroreaktywnością surowic dla Gag, Bet i Env oceniono za pomocą testu  $\chi^2$  Pearson i współczynnika kontyngencji. Natomiast badanie związku zakażenia FFV z wybranymi czynnikami i zaobserwowanymi symptomami przeprowadzono przy użyciu drzew interakcyjnych (C&RT).

**Wyniki i omówienie:** Spośród 157 surowic, 79 (50,3%) wykazało reaktywność dla białka Gag FFV. Przeciwciała specyficzne dla białka Bet wykryto w 58 (37%) próbkach, natomiast dla białka Env tylko w 30 próbkach (19%). Wśród 79 próbek pozytywnych dla Gag 57 (72,2%) wykazało reaktywność dla Bet a 29 (36,7%) dla Env, podczas gdy tylko 26 próbek (33%) wykazało obecność przeciwciał specyficznych dla wszystkich trzech antygenów. Testy statystyczne wykazały korelację pomiędzy obecnością przeciwciał specyficznych dla Gag i Bet, jak również dla Gag i Env w badanych surowicach. Jednak, biorąc pod uwagę otrzymane wyniki oraz dane literaturowe, w prezentowanych badaniach białko Gag posłużyło jako główny antygen diagnostyczny dla FFV, natomiast pozostałe antygeny potraktowano jako wspomagające narzędzia diagnostyczne. W związku z tym, spośród badanych próbek 50,3%, które wykazały reaktywność dla Gag uznano za dodatnie wobec FFV. Analiza statystyczna nie stwierdziła bezpośredniej korelacji pomiędzy zmiennymi demograficznymi badanych kotów i ich statusem serologicznym wobec FFV, lecz zastosowanie drzew interakcyjnych wykazało, że najwyższą wartość predykcyjną w odniesieniu do FFV miały wiek i rasa. Może to sugerować większe ryzyko zakażenia spumawirusem u kotów powyżej 45. miesiąca życia oraz u kotów rasowych. Nie odnotowano natomiast relacji między zakażeniem FFV a objawami chorobowymi badanych kotów. Uzyskane wyniki wskazują na szerokie rozprzestrzenienie zakażeń FFV u badanych kotów, jednak nie pozwalają na jednoznaczne określenie czynników ryzyka, które mogłyby zwiększać prawdopodobieństwo zakażenia tym wirusem.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Romen F., Pawlita M., Sehr P., Bachmann S., Schroder J., Lutz H., Lochelt M., 2006. Antibodies against Gag are diagnostic markers for feline foamy virus infections while Env and Bet reactivity is undetectable in a substantial fraction of infected cats. *Virology*, 345, 502–508.





## ZASTOSOWANIE BIOMATERIAŁÓW W LECZENIU UBYTKÓW KOSTNYCH U ZWIERZĄT

### THE USE OF BIOMATERIALS IN THE TREATMENT OF BONE DEFECTS IN ANIMALS

Izabela Polkowska<sup>1</sup>, Aleksandra Sobczyńska-Rak<sup>1</sup>, Tomasz Szponder<sup>1</sup>, Anna Szyszkowska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin,

<sup>2</sup>Zakład Chirurgii Stomatologicznej Uniwersytetu Medycznego, ul. Karmelicka 7, 20-081 Lublin

W celu przyspieszenia procesu gojenia i zapobiegania powikłaniom, zwłaszcza w przypadkach dużych ubytków kostnych, stosuje się materiały implantacyjne naturalne lub syntetyczne. Jednym z najbardziej popularnych jest hydroksyapatyt (HAp), będący uwodnionym krystalicznym fosforanem wapnia o wzorze  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Znalazł on zastosowanie w zabiegach sterowanej regeneracji kości (GBR – *Guided Bone Regeneration*). Zastosowanie HAp jako materiału wszczepowego do ubytku kostnego wzmacnia działanie osteoblastów i poprawia właściwości mechaniczne kości w okolicy ubytku. Czas osteointegracji hydroksyapatytu wynosi 5–16 miesięcy. Hydroksyapatyt w chirurgii stomatologicznej stosuje się najczęściej w postaci ziaren o wielkości 0,1–2,0 mm lub w postaci bloków różnej wielkości i kształtu.

W pracy przedstawiono przypadki wykorzystania hydroksyapatytu w stomatologicznym leczeniu przetoki ustno-nosowej oraz ubytków kostnych powstałych po ekstrakcji zęba u psów i kotów.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły psy i koty, u których wykonano ekstrakcję zęba. Po ekstrakcji zęba wykonywano łyżeczkowanie zębodołu i usuwano martwiczo zmienione tkanki kostne. Do przygotowanego zębodołu wprowadzano hydroksyapatyt w postaci bloczka i zabezpieczano odpreparowanym płatem śluzówki.

**Wyniki i omówienie:** Po dwóch tygodniach proces gojenia postępował prawidłowo, nastąpiło zamknięcie przetoki i nie obserwowano wypływu z jamy nosowej.

W opisanych przypadkach leczenia ubytków kostnych hydroksyapatyt okazał się dobrym biomateriałem przyspieszającym zamknięcie przetoki. Wykazano, że materiał wszczepowy w postaci HAp zapewnia pełniejszą i szybszą odbudowę ubytków kostnych, a kość powstająca na takim wszczepie ma bardziej regularną budowę niż kość powstająca tylko na bazie skrzepu.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Aitasalo K.M., Peltola M.J., 2007. Bioactive glass hydroxyapatite in fronto-orbital defect reconstruction. *Plast Reconstr. Surg.*, 120, 1963–1972.
- [2] Belcarz A., Ginalska G., Zima A., Polkowska I., Ślósarczyk A., Szyszkowska A., 2009. New HAp-organic composite as promising filler of bone defects. *Engineering of Biomaterials*, 88, 14–18.
- [3] Chruściel-Nogalska M., Światłowska M., 2001. Przebieg gojenia ubytków kostnych szczęki i żuchwy i jego wpływ na ukształtowanie podłoża protetycznego w oparciu o piśmiennictwo. *Protet. Stom.*, 51, 4, 197–201.



## ANALIZA ZAPISU ELEKTROENCEFALOGRAFICZNEGO U WEST HIGHLAND WHITE TERIERA Z IDIOPATYCZNYM ZAPALENIEM MÓZDŻKU

### THE ELECTROENCEPHALOGRAPHIC TRACES ANALYSIS DURING IDIOPATHIC CEREBELLITIS IN WEST HIGHLAND WHITE TERRIER

**Andrzej Pomianowski, Aneta Bocheńska, Tomasz Monowid**

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn, e-mail: apomian@uwm.edu.pl*

Idiopatyczne drżenia u psów młodych i dorosłych na tle zapalenia mózdzku obserwowane są szczególnie często u maltańczyków i west highland white terierów, ale opisywano ten stan chorobowy również u szpiców, jamników, samojedów czy yorkshire terierów. Etiopatogeneza tego zaburzenia nie została całkowicie wyjaśniona, ale podejrzewa się tło autoimmunologiczne upośledzające syntezę takich neurotransmiterów jak: dopamina, adrenalina i noradrenalina.

**Cel badań:** Analiza zapisu elektroencefalograficznego u psa rasy west highland white terier, u którego na podstawie badania neurologicznego podejrzewano idiopatyczne zapalenie mózdzku.

**Materiał i metody:** Pies, samica, niesterylizowana, w wieku 7 miesięcy, rasy west highland white terier wykazywała od 2 tygodni postępujące objawy rozsianych drżeń mięśniowych, dużego stopnia niezdolność ruchową z wyraźnym chodem hipermetrycznym. Badania hematologiczne i profil biochemiczny surowicy pozostawały w zakresie wartości referencyjnych. U pacjenta zostało wykonane badanie elektroencefalograficzne (EEG). Badanie przeprowadzono w znieczuleniu ogólnym (protokół: medetomidyna-propofol) na aparacie NicoletOne. Zapis EEG zarejestrowano w montażu 17 kanałowym monopolarnym: Fz, F7, F8, F3, F4, Cz, C3, C4, T3, T4, T5, T6, Pz, P3, P4, O1, O2, elektroda referencyjna oraz uziemienie. Elektrody igłowe zostały umieszczone podskórnym na głowie pacjenta zgodnie z międzynarodowym protokołem „10–20”. Zapis trwał 20 minut. Uzyskane wyniki poddano ocenie wzrokowej oraz analizie widmowej (FFT). Oceniano udział procentowy poszczególnych pasm częstotliwości delta, theta, alfa i beta oraz wartości amplitud na podstawie zapisu pozbawionego artefaktów. Przeprowadzono również proces mapowania przestrzennego na powierzchni czaszki

**Wyniki i omówienie:** Czynność podstawowa w zapisie EEG badanego pacjenta charakteryzowała się zastąpieniem prawidłowej czynności przez patologiczną zwolnioną i zdeorganizowaną czynność delta. W zapisie pojawiły się wielogniskowe i uogólnione iglice oraz nietypowe wyładowania iglica – fala. W analizie widmowej stwierdzono następujący udział procentowy poszczególnych pasm częstotliwości (delta 61,8%; theta 13,07%; alfa 3,82; beta 21,31%) przy wartościach widma mocy bezwzględnej odpowiednio (delta 1131,69  $\mu V^2$ ; theta 248,87  $\mu V^2$ ; 177,49  $\mu V^2$ ; 279,88  $\mu V^2$ ). Proces mapowania, będącym złożonym przekształceniem sygnałów EEG na podstawie danych o napięciu powstającym w danej chwili, wskazywał jednoznacznie na pochodzenie wysokonapięciowych potencjałów o niskiej częstotliwości z okolic ciemieniowo-potylicznych. Stanowiło to potwierdzenie przypuszczalnego rozpoznania. Badanie EEG stanowi przydatne narzędzie diagnostyczne w ocenie zaburzeń funkcji mózdzku. Pacjent po zastosowaniu leczenia przy użyciu glikokortykosteroidów wrócił całkowicie do zdrowia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bergamasco L., Accantino A., Priano L., Neiger-Aeschbacher G., Cizinauskas S., Jaggy A., 2003. Quantitative electroencephalographic findings in beagles anaesthetized with propofol. *Vet. J.*, 58–66.
- [2] Wagner S.O., Podell M., Fenner W.R., 1997. Generalized tremors in dogs: 24 cases (1984–1995). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 731–735.



## DYNAMICZNA STYMULACJA KOMÓREK PULSUJĄCYM POLEM MAGNETYCZNYM JAKO TERAPIA WSPOMAGAJĄCA W CHOROBYCH ZWYRODNIENIOWYCH STAWÓW

### THE DYNAMIC STIMULATION OF CELLS BY PULSATING MAGNETIC FIELD AS A HELPING THERAPY IN THE ARTHROSIS

Anita Procajło, Justyna Radwińska, Artur Stopyra, Katarzyna Żarczyńska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką, e-mail: anitap@uwm.edu.pl

Fizykoterapia weterynaryjna jest w Polsce ciągle jeszcze mało popularna, pomimo że istnieje wiele doniesień o korzystnym wpływie zabiegów fizykoterapeutycznych zwierząt, w różnych stanach chorobowych.

**Materiał i metody:** Badania wykonano u 12-letniej suki, mieszańca, z zaawansowanym ropomaciczem i guzami nowotworowymi listwy młecznej. Po zabiegu ovariosterectomii i usunięciu listwy młecznej stan zwierzęcia uległ nieznacznej poprawie. Po znieczuleniu ujawniła się niewydolność wątroby, nerek z mocznicą i encefalopatią wątrobową. W trakcie antybiotykoterapii nastąpiło spastyczne porażenie kończyn miednicznych, skręt szyi na stronę lewą, pies nie mógł utrzymać się na łapach i nie reagował na otoczenie. Rana popękana goiła się źle, z ropnym wysiękiem, obrzękiem i przekrwieniem.

Badanie przeprowadzono w celu oceny skuteczności dynamicznej stymulacji komórek na organizm zwierzęcia.

**Wyniki i omówienie:** Stosowana przez 2 tygodnie terapia farmakologiczna (kroplówki, sterydowe leki przeciwzapalne, diuretyki) spowodowała zmniejszenie napięcia mięśni karku i obręczy miednicznej, lecz pies nadal nie poruszał się samodzielnie. Zdecydowano o wspomaganie leczenia pulsującym polem magnetycznym (mata CELINEMED®ANIMALIS) 2 razy dziennie 20 minut, intensywność 1–1,5. Po 7 dniach suczka pierwszy raz samodzielnie zaczęła się poruszać, stan rany pooperacyjnej ulegał widocznej poprawie od 3. dnia zabiegów. Po 4 tygodniach stosowania terapii polem magnetycznym pies samodzielnie się poruszał, całkowicie ustąpiła sztywność mięśni karku i obręczy miednicznej, rana uległa zabliznieniu.

Uzyskane wyniki wskazują na korzystne działanie zastosowanych zabiegów fizykoterapeutycznych.



## OZONOTERAPIA – JAKO METODA LECZENIA RAN ZAKAŻONYCH ZIARNINUJĄCYCH

### OZONOTHERAPY – AS A METHOD OF TREATMENT OF INFECTED WOUNDS BY GRANULATION

Przemysław Prządka, Bogdan Osiński, Piotr Skrzypczak, Jakub Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: przemyslaw.przadka@up.wroc.pl

Ozon jest alotropową, wysokoenergetyczną odmianą tlenu o bardzo silnych właściwościach utleniających. Działa przeciwbakteryjnie, przeciwgrzybiczo i przeciwwirusowo przy jednoczesnym braku oporności mikroorganizmów na ozon. Po wprowadzeniu do organizmu polepsza utlenowanie tkanek gorzej dotlenionych i odżywianych (zmniejszenie rulonizacji erytrocytów i uelastycznienie ich błon komórkowych), osłabia również procesy zapalne.

Ozonoterapia określana jako terapia tlenowo-ozonowa należy do niekonwencjonalnych metod leczenia. Znalazła zastosowanie m.in. w leczeniu: owrzodzeń i trudno gojących się ran, przetok, zmian troficznych kończyn różnego pochodzenia, opornych na antybiotykoterapię zapaleń pęcherza, stercza, nerek, zapaleń tkanki kostnej, stawów, szpiku kostnego, miażdżycy. Od czasów odkrycia właściwości zalet ozonu jest on wykorzystywany jako metoda wspomagająca leczenie podstawowe ran zakażonych. Istnieje kilka technik podawania ozonu, m.in.: ozonowanie krwi żyłnej (metoda autohemotransfuzji); podawanie dotętnicze, domięśniowe, podskórne, do jam ciała, do płynu mózgowo-rdzeniowego; jako drenaż płuczący naozonowanymi płynami infuzyjnymi oraz jako kąpiele w wodzie ozonowej lub suche (gazowe), które są najczęściej wykorzystywane w leczeniu ran u zwierząt.

**Materiał i metody:** Leczeniu poddano 9 psów i 7 kotów z rozległymi ubytkami skóry, zakażonymi ranami w dalszych części kończyn piersiowych i miednicznych. Rany dotyczyły okolic stępu, śródstopia i palców - 5 psów i 3 kotów oraz nadgarstka, śródreżca i palców - 4 psów i 4 kotów, często łącznie z odsłoniętymi fragmentami kości danej okolicy. W leczeniu podstawowym stosowano antybiotykoterapię oraz miejscowo opatrunki. Równocześnie z leczeniem podstawowym stosowano ozonoterapię jako metodę wspomagającą. W tym celu wykonywano suche kąpiele (gazowe) mieszaniną tlenowo-ozonową poprzez założenie uszczelnionego mankietu z tworzywa ozonoodpornego obejmującego chorobowo zmienione miejsca. Do wnętrza mankietu wprowadzano mieszaninę tlenowo-ozonową, wytworzoną z tlenu medycznego przy użyciu aparatu „OXYZON STANDARD”, o stężeniu około 54 gamma ozonu na  $\text{cm}^3$  tlenu przez okres około 45 minut. Procedurę powtarzano co 24 godziny do chwili uzyskania poprawy klinicznej obrazu makroskopowego ziarniny, wysięku i jego ilości zakażonej rany (brak oznak zakażenia i obecność zdrowej ziarniny na całej powierzchni rany) lub jej wygojenia.

**Wyniki i omówienie:** Wykorzystując przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze oraz przeciwwirusowe właściwości ozonu, udało się szybko opanować zakażenie ran i osiągnąć szybki proces gojenia. Takie działanie ozonu związane jest z jego silnymi właściwościami utleniającymi. Rany po zabiegu ozonoterapii przybierały zabarwienie jasnoczerwone, a na ich powierzchni była widoczna opalizująca wydzielina. Po ustąpieniu zakażenia w ocenie klinicznej rana wypełniała się zdrową ziarniną, a z obwodu rany obserwowano naskórkowanie i powstanie blizny. We wszystkich przypadkach zakażonych ran leczonych mieszaniną tlenowo-ozonową jako metodą wspomagającą leczenie podstawowe uzyskano pełne wyleczenie.

W czasie stosowania ozonoterapii w leczeniu ran obserwowano w krótkim czasie bardzo intensywny rozwój zdrowej ziarniny przy jednoczesnym szybkim opanowaniu zakażenia rany. Uzasadnione wydaje się stosowanie ozonoterapii jako metody wspomagającej w leczeniu trudno gojących się ran. Właściwości i korzyści płynące z stosowania ozonu oraz stosunkowo niewielki koszt zabiegu ozonoterapii pozwalają na rutynowe użycie ozonu w leczeniu trudno gojących się ran u zwierząt.

#### Piśmiennictwo:

[1] Antoszewski Z., Madej P., 1997. Ozonoterapia i jej zastosowanie w medycynie.



## WAPNIENIE GUZOWATE (*CALCINOSIS CIRCUMSCRIPTA*) U PSÓW RASY OWCZAREK NIEMIECKI

### *CALCINOSIS CIRCUMSCRIPTA* IN GERMAN SHEPHERD DOGS

Kornel Ratajczak<sup>1</sup>, Małgorzata Legień<sup>1</sup>, Janusz Bieżyński<sup>1</sup>, Stanisław Dzimira<sup>2</sup>,  
Maciej Kiełbowicz<sup>1</sup>, Joanna Paczuska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii,

<sup>2</sup>Katedra Patologii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: kornel.ratajczak@up.wroc.pl

*Calcinosis circumscripta* polega na odkładaniu soli wapnia w skórze, tkankach podskórza, pochewek, powięzi lub mięśni i formowaniu guzów. Choroba dotyczy zarówno człowieka, jak i różne gatunki zwierząt. Etiologia i patogeneza zmian pozostaje dalej nieznaną.

**Cel pracy:** Przedstawienie przypadków wapnienia guzowatego u młodych psów, własna ocena sposobu diagnozowania choroby i jej leczenia.

**Materiał i metody:** Przedstawiono przypadki dwóch psów rasy owczarek niemiecki z wapiennymi zmianami guzowatymi w tkankach podskórza. Pies I, samica 5 miesięcy – guz w okolicy łokcia, pies II, samiec 9 miesięcy – guz okolicy szyi; zwierzęta poddano badaniu klinicznemu i radiologicznemu. Rozpoznane guzy usunięto chirurgicznie z marginesem zdrowych tkanek i zbadano histopatologicznie.

**Wyniki i omówienie:** Materiał potwierdza ustalenia innych autorów, że choroba najczęściej występuje w wieku do 2 lat. Przeszło 90% opisywanych przypadków dotyczy psów dużych ras, głównie owczarków niemieckich i ich mieszańców. Wapnienia guzowate najczęściej pojawiają się w tkance łącznej podskórnej kończyn oraz w okolicy stawów. Przykładem tej lokalizacji jest opisany przypadek I, w którym guz umiejscowiony był w okolicy łokci. Zmiany najczęściej formują się w bezpośredniej bliskości tkanki kostnej oraz tkance łącznej włóknistej więzadeł, powięzi i ścięgien, co potwierdzają także obserwacje własne. Guzy wapniowe są niebolesne, mogą jednak powodować ucisk na sąsiadujące struktury anatomiczne i tą drogą zależnie od lokalizacji wywoływać kulawiznę lub ból przy omacywaniu. U obu pacjentów notowano zaburzenia ruchu wywołane obecnością guza wapniowego na kończynie oraz ból przy próbach manipulacji głową i szyją. Wielkość guzów wapniowych jest różna, spotyka się guzy o średnicy od 0,5 do 7cm, a nawet większe. Zbliżonej wielkości guzy prezentował materiał własny (odpowiednio 0,9 x 1,7 cm i 3,8 x 7 cm). Znaczna wielkość guza w okolicy szyi u pacjenta II spowodowała deformację tej części ciała. Wapnica miejscowa powstaje najczęściej w miejscach narażonych wcześniej na urazy i uszkodzenia. U pacjentów leczonych przez autorów, wywiad nie wykluczał tła urazowego. Radiogram wykazał zmiany w formie owalnych cieni o nieregularnym wysyceniu. Diagnostyka radiologiczna wskazana jest w przypadku występowania guzów w miejscach niedostępnych do badania fizykalnego, umożliwia uwidocznienie złogów wapnia oraz potwierdzenie dokładnej lokalizacji guza w tkankach miękkich i ich położenia w stosunku do sąsiadujących kości. Ostatecznym potwierdzeniem *calcinosis circumscripta* było badanie histologiczne, które wykazało obecność wielogniskowych nieregularnych obszarów zawierających silnie zasadochłonne (ciemnoniebieskie) masy otoczone delikatnym naciekiem zapalnym złożonym z limfocytów, makrofagów i pojedynczych komórek olbrzymich typu ciał obcych. Zmiany proliferacyjne nie miały cech rozrostu nowotworowego. Z własnych obserwacji wynika, że skuteczną metodą leczenia jest całkowite, chirurgiczne usunięcie zmian guzowatych. Przypadkowe pozostawienie torebki lub fragmentu ziarniaka wapniowego może doprowadzić do wznowy. Kontrola pacjentów 3 miesiące po operacji nie wykazała nawrotu choroby. Rokowanie jest dobre po zabiegu usunięcia guzów wapniowych z zachowaniem marginesu zdrowych tkanek.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Houszka M., Ratajczak K., Salem H., 1978. *Calcinosis tumoralis* i *calcinosis circumscripta* u psów. Med. Wet., 3, 146–149.
- [2] Jeong W., Noh D., Kwon O., Williams B., Park S., Lee M., Chung J., Lee G., Yun H., Jeong K., 2004. *Calcinosis Circumscripta* on Lingual Muscles and Dermis in a Dog. J. Vet. Med. Sci., 66, 433–435.





## REKONSTRUKCJA UBYTKU POWIEKI DOLNEJ U PSA METODĄ LIP-TO-LID

### USE OF THE LIP-TO-LID FLAP FOR REPLACEMENT OF THE LOWER EYELID IN A DOG

**Dorota Różańska, Beata Żylińska, Maciej Orzelski**

*Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt, Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: dorota.rozanska@up.lublin.pl*

Nowotwory powiek są często spotykane u psów. Większość stanowią nowotwory łagodne. Najczęściej u psów rozpoznawane są guzy gruczołów łojowych, brodawczaki oraz czerniaki. Po chirurgicznym usunięciu niewielkie ubytki można zespać bezpośrednio, stosując szwy zbliżające brzegi rany. W przypadku utraty powieki do  $\frac{1}{4}$  jej długości dla zmniejszenia napięcia można zastosować kantotomię boczną. Większe ubytki powieki od wymienionej długości wymagają zastosowania technik rekonstrukcyjnych.

**Materiał i metody:** Przypadek kliniczny dotyczył psa, samca, mieszańca owczarka niemieckiego, w wieku 10 lat. U psa zaobserwowano szybko powiększającą się, dobrze odgraniczoną, zmianę guzową powieki dolnej lewej. Właściciel poinformował, że u pacjenta wykonano zabieg usunięcia guzka tej samej powieki 6 miesięcy wcześniej. Wycinka nie badano wówczas histopatologicznie. Po powtórny, chirurgicznym usunięciu zmiany powstał ubytek powieki dolnej osiągający połowę jej długości, w części przylegającej do zewnętrznego kąta oka. Przeprowadzono zabieg rekonstrukcji powieki metodą lip-to-lid (usta-do-powieki). Po usunięciu fragmentu powieki do spojówki doszyto śluzówkę policzkową przemieszczonego płata, następnie zespolono tkankę podskórną i skórę płata z okolicznymi tkankami. W badaniu histopatologicznym rozpoznano raka płaskonabłonkowego.

**Wyniki i omówienie:** Rekonstrukcja ubytku powieki dolnej według metody lip-to-lid jest skuteczną metodą leczenia, zwykle niewymagającą kolejnych zabiegów chirurgicznych. W opisywanym przypadku gojenie przebiegało pomyślnie. W badaniu kontrolnym pacjent zachowywał sprawność powiek po 7 dniach od zabiegu. Sześć miesięcy po zabiegu nie zaobserwowano wznowy.

#### **Piśmiennictwo:**

- [1] Aquino S.M., 2007. Management of eyelid neoplasms in the dog and cat, *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 22, 46–54.



## ZASTOSOWANIE IMMUNOCYTOCHEMII W PRZEDOPERACYJNYM ROZPOZNANIU NISKOZRÓŻNICOWANEGO RAKA JAMY USTNEJ U PSA

### APPLICATION OF IMMUNOCYTOCHEMISTRY IN PRESURGICAL DIAGNOSIS OF UNDIFFERENTIATED ORAL CARCINOMA IN A DOG

Rafał Sapieryński

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Zakład Patomorfologii Zwierząt, ul. Nowoursynowska 159 c, 02-776 Warszawa; e-mail: rafal\_sapierynski@sggw.pl

Złośliwe nowotwory jamy ustnej u psów to jedne z najczęściej obserwowanych nowotworów rozpoznawanych u psów, do najpowszechniej występujących zalicza się: czerniaki, raki i mięsaki. Precyzyjne rozpoznanie pochodzenia złośliwego guza jamy ustnej ma niezwykle istotne znaczenie w wyborze metody leczenia i określania rokowania.

**Cel pracy:** Prezentacja zastosowania barwień immunocytochemicznych do rozpoznania przypadku niskozróżnicowanego nowotworu jamy ustnej u psa.

**Materiał i metody:** 10-letni owczarek niemiecki samiec z wykrytym wrzodziejącym guzem zlokalizowanym na dziąśle żuchwy został poddany biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej celem określenia rozpoznania stwierdzonego rozrostu. Barwienie rozmazów rutynowych (barwienie barwnikiem Giemsa) wykazało obecność nieodróżnicowanego rozrostu złośliwego bez możliwości oceny pochodzenia, z silnym ropnym odczynem zapalnym. W czasie powtórnej biopsji pobrano materiał do badań immunocytochemicznych. Rozmazy utrwalono przez 10 min. w zimnym acetonie (4°C) i następnie poddano barwieniu immunocytochemicznemu z zastosowaniem przeciwciał przeciwko cytokeratynie (CK), wimentynie (Vim), antygenowi MelanA, desminie (Des), według procedur opisanych wcześniej.

**Wyniki i omówienie:** Komórki nowotworowe nie wykazywały reakcji przeciwko: Vim, MelanA, Des; około 15% komórek wykazywało łagodną umiarkowaną bądź wyraźną ekspresję cytokeratyny. Na podstawie przeprowadzonych barwień postawiono cytopatologiczne rozpoznanie niskozróżnicowanego raka płaskonabłonkowego dziąsła. Guz został usunięty poprzez lewostronną mandibulektomię, do badania pobrano wycinek nowotworu, wykonano badanie histopatologiczne i immunohistochemiczne z zastosowaniem wymienionych wcześniej przeciwciał i potwierdzono przedoperacyjne rozpoznanie niskozróżnicowanego raka płaskonabłonkowego.

Zastosowane barwienia immunocytochemiczne z zastosowaniem markerów odpowiednio dla tkanki: nabłonkowej, mezenchmalnej, barwnikowej i mięśniowej pozwoliło ustalić rozpoznanie niskozróżnicowanego raka płaskonabłonkowego. Niski stopień zróżnicowania charakteryzował się brakiem wyraźnych cech nie tylko rogowacenia, ale także tworzenia struktur nabłonkowopodobnych, co sprawiało, że rozpoznanie cytopatologiczne było bardzo trudne, o ile w ogóle możliwe. Rokowanie w przypadku raka dziąsła u psa jest umiarkowane, wiąże się z umiarkowaną tendencją dawania przerzutów (3–36% przypadków), leczenie zazwyczaj ogranicza się do radykalnego zabiegu chirurgicznego i pozwala na uzyskanie czasu przeżycia sięgającego do 18 miesięcy. Barwienia pozwoliły wykluczyć obecność czerniaka amelanotycznego, w przypadku którego rokowanie jest zdecydowanie gorsze, wiąże się z koniecznością wprowadzenia połączenia radykalnego zabiegu chirurgicznego z chemioterapią. Dodatkowo, obecność czerniaka wiąże się z wysokim ryzykiem powstania przerzutów (około 67% przypadków), a mediana okresu przeżycia psów po radykalnym zabiegu chirurgicznym wynosi około 8 miesięcy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Sapieryński R., Malicka E., Bielecki W., Krawiec M., Osińska B., Sendcka H., Sobczak-Filipiak M., 2007. Nowotwory jamy ustnej u psów i kotów: retrospektywny przegląd 143 przypadków. *Med. Wet.*, 63, 1196–1199.
- [2] Sapieryński R., 2010. Practical aspects of immunocytochemistry in canine lymphomas. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 13, 653–659.



## OCENA PRZYDATNOŚCI LASERA CHIRURGICZNEGO CO<sub>2</sub> W LECZENIU BRODAWCZAKOWATOŚCI BŁONY ŚLIZOWEJ JAMY USTNEJ PSÓW

### UTILITY OF THE SURGICAL LASER CO<sub>2</sub> BTL IN THERAPY OF CANINE ORAL PAPILLOMATOSIS

Grzegorz Sapikowski<sup>1</sup>, Krzysztof Rypuła<sup>2</sup>, Jarosław Popiel<sup>1</sup>, Józef Nicpoń<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów, <sup>2</sup>Katedra Epizootiologii i Administracji Weterynaryjnej z Kliniką, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: grzegorz.sapikowski@up.wroc.pl

Brodawczakowatość błon śluzowych jamy ustnej psów jest chorobą wywołaną przez wirusy z rodziny *Papovaviridae* (*Canine Oral Papilloma* – COPV). W przebiegu choroby na błonach śluzowych jamy ustnej zakażonych psów widoczne są pojedyncze lub mnogie zmiany brodawkowate zlokalizowane w przedsionku i jamie ustnej właściwej oraz na języku. Zakażenia te mają charakter ekspansywny i nie leczone mogą doprowadzić do rozprzestrzenienia się zmian w obrębie całej jamy ustnej i warg [1]. Terapia brodawczakowatości oparta jest na zastosowaniu technik chirurgicznych (wycięcie podwiązanie), krioterapii z użyciem ciekłego azotu oraz farmakoterapii miejscowej z użyciem preparatów keratolitycznych lub zastosowaniem autoszczepionek. Sporadycznie może dochodzić do samowyleczenia, jednak ze względu na tło zakaźne i możliwość przenoszenia wirusa na inne zwierzęta, jak i na człowieka wskazane jest leczenie.

**Cel badań:** Zastosowanie i ocena przydatności lasera chirurgicznego CO<sub>2</sub> UML – 25 (*BTL Polska*) w usuwaniu zmian brodawkowatych jamy ustnej psów.

**Materiał i metody:** Do zabiegu z zastosowaniem lasera chirurgicznego zakwalifikowano 103 psy, różnych ras, wielkości, obu płci. Zwierzęta przed zabiegiem poddano badaniu klinicznemu i stomatologicznemu, po którym leczeniu techniką laserową poddano 82 psy (71 psów w znieczuleniu oraz 11 po premedykacji i znieczuleniu miejscowym), u których oceniano przydatność, skuteczność leczenia z zastosowaniem trybu ciągłego lub trybu impulsowego pracy lasera.

Wszystkie psy po zabiegu laseroterapii były poddawane przez dwa tygodnie codziennej ocenie stomatologicznej, gdzie oceniano stan tkanek sąsiadujących, postęp w gojeniu, samopoczucie zwierząt oraz czas gojenia i powstawanie blizn. Psy podlegały także trzykrotnej, comiesięcznej ocenie pozabiegowej w celu stwierdzenia ewentualnej wznowy lub pojawienia się nowych ognisk chorobowych.

**Wyniki i omówienie:** U 15 psów zdiagnozowano występowanie zmian pojedynczych, u pozostałych proces wieloogniskowy (średnio po 4 zmiany chorobowe na psa). Zmiany duże usuwano w granicach tkanki zdrowej, co pozwalało pozyskać materiał do badania histopatologicznego, który był podstawą diagnozy klinicznej. Zmiany małe (do 2–3 mm) usuwano techniką odparowania tkanki chorobowej. Użycie lasera pozwalało precyzyjnie i bezkontaktowo operować, a uszkodzenie tkanek było bezkrwawe i powierzchowne. Proces gojenia u wszystkich psów przebiegał bez komplikacji, a odczyn reakcji tkanek sąsiadujących był nieznacznie wyrażony. W przypadku zmian o małych rozmiarach gojenie następowało w pierwszym tygodniu po zabiegu. Proces gojenia zmian dużych trwał średnio 12–14 dni, a proces powstania blizny i jej zaniku przedłużał się do 4 tygodni. Wznowy pojedynczych zmian stwierdzono u 4 psów. Blizny wystąpiły tylko w przypadku zastosowania trybu ciągłego pracy lasera.

**Wnioski:** 1. Skuteczność leczenia brodawczakowatości jamy ustnej z użyciem lasera chirurgicznego CO<sub>2</sub> wyniosła 97%. 2. Niszczenie tkanek nie pozwala ocenić efektywności usunięcia zmiany patologicznej w granicach tkanek zdrowych. 3. Odparowanie zmian niewielkich rozmiarów uniemożliwia pozyskanie tkanek do badania histopatologicznego. 4. Miejsca po leczeniu laserowym tkanek pigmentowanych ulegały odbarwieniu. 5. Zastosowanie impulsowego trybu pracy lasera skracało czas gojenia i ograniczało powstawanie blizn. 6. Zastosowanie techniki laserowej ogranicza dysfagię i pozwala na szybki powrót psa do zdrowia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bredal W.P., Thoresen S.I., Rimstad E., Aleksandersen M., Nafstad P.H., 1996. Diagnosis and clinical course of canine oral papillomavirus infection. *J. Small Anim. Pract* 37, 138–142.
- [2] Cierpisz J., Kiełbowski Z., Król J., 1993. The use of autovaccine in atypical case of papillomatosis in a dog. *Życie Weterynaryjne* 68, 205–206.



## PRÓBA WYKORZYSTANIA PŁYNU Z JAMY OTRZEWNEJ W DIAGNOSTYCE ZABURZEŃ RÓWNOWAGI KWASOWO-ZASADOWEJ U PSÓW

### TRIAL USE OF PERITONEAL FLUID IN DIAGNOSTICS OF ACID-BASE BALANCE DISORDERS IN DOGS

Piotr Sławuta, Kamila Glińska-Suchocka

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail:piotr.slawuta@up.wroc.pl

Parametry równowagi kwasowo-zasadowej (RKZ) krwi: pH, stężenie wodorowęglanów ( $\text{HCO}_3^-$ ) oraz ciśnienie cząstkowe dwutlenku węgla ( $\text{pCO}_2$ ) są wykorzystywane w diagnostyce i terapii zaburzeń homeostazy organizmu o charakterze kwasicy lub zasadowicy. Najbardziej wiarygodny wgląd w aktualny stan RKZ umożliwia badanie krwi tętniczej. Obecnie, w medycynie człowieka, pojawiły się doniesienia o próbach wykorzystania w diagnostyce zaburzeń RKZ płynu z jam ciała. Celem prezentowanej pracy było porównanie parametrów RKZ: pH,  $\text{pCO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$  oznaczonych we krwi tętniczej i płynie z jamy brzusznej.

**Materiał i metody:** Badania porównawcze przeprowadzono u 20 psów różnych ras, (12 samców, 8 samic), u których występowało wodobrzusze, będące wynikiem hipoalbuminemii powstałej w przebiegu przewlekłej niewydolności nerek, zdiagnozowanej na podstawie badania klinicznego i badań laboratoryjnych. U każdego psa wykonano pełną morfologię krwi wraz z rozmazem oraz badania biochemiczne surowicy krwi. Od wszystkich psów z tętnicy udowej pobierano 1 ml pełnej krwi do heparynizowanej strzykawki zaopatrzonej w igłę o średnicy wewnętrznej 0,7 mm oraz wykonano punkcję jamy brzusznej w linii białej w odległości 2–6 cm, w kierunku doogonowym od pępka. W próbce krwi tętniczej i pobranego do strzykawki, bez dostępu powietrza, płynu z jamy brzusznej oznaczono parametry RKZ: pH,  $\text{pCO}_2$ , stężenie  $\text{HCO}_3^-$ . Analizę RKZ i jej zaburzeń wykonano metodą klasyczną – na podstawie równania HH, uwzględniającego stężenie  $\text{HCO}_3^-$  i  $\text{pCO}_2$ . Do potwierdzenia diagnozy zastosowano również elementy diagnostyki zaburzeń RKZ według modelu Stewarta, zgodnie z zasadami interpretacji podanymi przez Correy'a [1], obliczając wartość różnicy stężeń tak zwanych silnych kationów i anionów w surowicy - SID (strong ion difference) wg następujących wzorów:

$$\text{SID}_3 = (\text{Na}^+) + (\text{K}^+) - (\text{Cl}^-)$$

$$\text{SID}_4 = [(\text{Na}^+) + (\text{K}^+)] - [(\text{Cl}^-) + (\text{mleczany})].$$

**Wyniki i omówienie:** Parametry RKZ oznaczone w krwi tętniczej i płynie miały zbliżone wartości liczbowe. Analiza wyników – wzrost pH i stężenie  $\text{HCO}_3^-$  w górnej granicy normy wskazuje na występowanie zaburzeń RKZ o charakterze zasadowicy metabolicznej. Wartości  $\text{SID}_3$  i  $\text{SID}_4$  przekraczające wartości referencyjne podane dla psów oraz niskie stężenie albumin, według zasad podanych przez Correy'a [1], świadczą również o występowaniu zasadowicy metabolicznej. Z otrzymanych danych wynika: w przypadku gdy źródłem płynu jest rozbudowana sieć włosniczkowa, prężność gazów i pozostałe parametry RKZ są podobne do tych oznaczonych we krwi tętniczej, oraz – o ile nie ma możliwości pobrania krwi tętniczej, to w przypadku niewydolności nerek do szybkiej diagnostyki zaburzeń RKZ można wykorzystać płyn z jamy ciała.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Correy H.E., 2005. Bench-to-bedside review: Fundamental principles of acid-base physiology. Crit Care, 9, 184–192
- [2] DiBartola S.P., 2006a. Introduction to acid – base disorders, [in:] DiBartola S.P. (ed.) Fluid, electrolyte and acid base disorders in small animal practice. Saunders Elsevier, St. Louis, 229–251.
- [3] Pomianowski A., Kuleta Z., Stopyra A., Sobiech P., 2004. Studies of acid-base parameterers and ionic composition in arterial, venous and capillary blood in healthy dogs. Med. Wet., 60, 519–522.



## BADANIE ŁOŻYSKA ORAZ MARTWYCH SZCZENIĄT I KOCIĄT W CELU OKREŚLENIA PRZYCZYŃ ICH UPADKÓW – DONIESIENIE WSTĘPNE

### THE EXAMINATION OF THE PLACENTA AND DEAD PUPPIES AND KITTENS TO DIAGNOSE THEIR LOSS – THE PRELIMINARY REPORT

Małgorzata Sobczak-Filipiak<sup>1</sup>, Piotr Jurka<sup>2</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, <sup>2</sup>Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, ul. Ciszewskiego 8; 02-786 Warszawa, e-mail: msfilipiak@wp.pl

Łożysko uczestniczy w wymianie gazowej, pobieraniu substancji odżywczych, wydalaniu oraz jest źródłem substancji odżywczych do rozwoju zarodków. Spełnia znaczącą rolę ochronną – bariery immunologicznej oraz gruczołu dokrewnego. U psów i kotów rozwija się łożysko prawdziwe, śródbłonkowo-kosmówkowe, poprzęgowe/pierścieniowe; ściśle połączone ze ścianą macicy.

**Cel pracy:** Ocena przyczyn upadków szczeniąt i kociąt na podstawie zmian w narządach wewnętrznych oraz łożyskach.

**Materiał i metody:** Do oceny nadesłano 15 poronionych lub martwo urodzonych płodów (12 płodów psów i 3 kotów), w tym 10 wraz z łożyskiem. Wykonano sekcję płodów, badanie histopatologiczne narządów wewnętrznych płodów oraz łożysk, a także przekazano wycinki do badań bakteriologicznych. Materiały do badań histopatologicznych oraz mikrobiologicznych był opracowywane rutynowo.

**Wyniki i omówienie:** U psów: w 8 przypadkach przyczyną śmierci płodów było zakażenie *E. coli* hemolit., którą wyhodowano z wycinków narządów wewnętrznych płodów oraz łożysk. W badaniu histopatologicznym łożyska stwierdzono ogniska martwicy, wylewy krwi i skąpe nacieki komórkowe zapalne z dominacją granulocytów obojętnochłonnych. W 4 przypadkach przyczyną śmierci było zakażenie wirusem *Herpes canis* stwierdzone na podstawie obrazu klinicznego i anatomopatologicznego (m.in. obecność kwasochłonnych ciałek wtrętowych wewnątrzjądrowych w jądrach hepatocytów). W tych przypadkach nie dostarczono łożysk do badań. W 1 przypadku przyczyną śmierci było niedotlenienie płodu, w tym – cechy uogólnionej encefalopatii niedotlenieniowo-niedokrwiennej. Łożyska do badania nie nadesłano. U kotów: w 1 przypadku przyczyną śmierci płodu było zakażenie chlamydiami. Obraz histopatologiczny łożyska – ogniska martwicy i wapnienia, nacieki komórkowe zapalne – nasunął podejrzenie chlamydiozy; wykonano dodatkowe barwienie metodą Giemsy (wg. Cowella i wsp. – metoda barwienia polecana przy diagnostyce różnicowej) – w tkankach płodu i w łożysku stwierdzono obecność makrofagów fagocytujących mikroorganizmy. W 1 przypadku niska masa urodzeniowa (78 g) i opóźniony rozwój płodu związane były ze zmianami w łożysku – stwierdzono w nim zaśniead groniasty częściowy. Materiał nadesłany do badania pozwolił każdorazowo na ustalenie przyczyny upadku. W sytuacji zakażeń wirusowych przeprowadzone badania, pomimo braku łożysk, umożliwiły postawienie ostatecznego rozpoznania. W przypadku niedotlenienia płodu brak łożyska uniemożliwił ocenę przyczyn niedotlenienia – czy było konsekwencją zmian w łożysku, czy raczej wiązało się z opóźnionym i przedłużającym się porodem. Obraz histopatologiczny łożyska w zakażeniu bakteryjnym korespondował ze zmianami stwierdzonymi u płodów. W przypadku chlamydiozy u kota dodatkowe barwienie potwierdziło wstępne rozpoznanie, postawione na podstawie rutynowych badań. Gdy wykazano zaśniead groniasty częściowy rozstrzygające było badanie histopatologiczne łożyska, gdyż zmiany obecne w tkankach płodu nie były charakterystyczne.

**Wnioski:** 1) Przeprowadzone badania pozwoliły na jednoznaczne ustalenie przyczyny śmierci płodów. 2) Badanie łożyska stanowi integralną, a niekiedy – jedyną możliwość oceny przyczyn upadków noworodków małych zwierząt. 3) Uzyskane w wyniku badań informacje stanowiły podstawę do wdrożenia leczenia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Jackson P.G.G., 2010, Położnictwo weterynaryjne. Elsevier, Urban i Partner, red. I wyd. polskiego W. Nizański, Wrocław.
- [2] Max A., 2010. Koty – położnictwo i rozród, Galaktyka; Diagnostic Cytology and Hematology of Dog and Cat, R. Cowell, R. Tyler, J. Meinkoth, 1999. MOSBY Inc.,





## ROLA *ESCHERICHIA COLI* W UPADKACH KOCIĄT I MŁODYCH KOTÓW

### THE ROLE OF *ESCHERICHIA COLI* IN THE LOSS OF KITTENS AND YOUNG CATS

Małgorzata Sobczak-Filipiak<sup>1</sup>, Piotr Jurka<sup>2</sup>, Magdalena Rzewuska<sup>3</sup>, Borys Błaszczak<sup>1</sup>,  
Wojciech Bielecki<sup>1</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, <sup>2</sup>Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, <sup>3</sup>Katedra Nauk Przedklinicznych, ul. Ciszewskiego 8; 02-786 Warszawa; msfilipiak@wp.pl

Warunkowo chorobotwórcze pałeczki z gatunku *E. coli* są komensalami jelita grubego ludzi i zwierząt stałocieplnych. W sprzyjających warunkach, szczególnie u noworodków, może dochodzić do namnażania się patogennych szczepów *E. coli* (zakażenia przewodu pokarmowego, moczowego, krążenia, układu rozrodczego i nerwowego, a także – posocznica). U chorych kociąt stwierdzano obecność zarówno enteropatogennych, jak enterotoksycznych i enterokrwtoczących szczepów *E. coli* [1, 2, 3].

**Cel pracy:** Określenie roli *E. coli* w upadkach kociąt i młodych kotów.

**Materiał i metody:** Wykonano sekcję zwłok 45 kotów rasowych, w tym – 5 płodów, 20 kotów w wieku do 8 tygodni i 20 kotów w wieku od 8 tygodni do 1 roku. Pobierano wycinki narządów wewnętrznych do badań histopatologicznych oraz bakteriologicznych.

**Wyniki i omówienie:** W 46,67% przypadków przyczyną śmierci było zakażenie bakteryjne, z czego większość (66,67%) stanowiły zakażenia *E. coli* (w 13 przypadkach na 14 badanych wyizolowano hemolityczne szczepy *E. coli*). W 3 przypadkach stwierdzono zakażenie bakteryjne mieszane – *E. coli* oraz *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pasteurella* spp. Natomiast w 2 przypadkach zakażenie hemolitycznym szczepem *E. coli* towarzyszyło wirusowemu zapaleniu jelit. W obrazie patomorfologicznym zakażenia *E. coli* stwierdzano zapalenie przewodu pokarmowego, jeden przypadek zakażenia górnych dróg moczowych – ropień nerki (lewej) oraz trzy przypadki – włóknikowo-ropnego zapalenia płuc i opłucnej.

Zakażenia bakteryjne, prowadzące do śmierci kociąt i młodych kotów, w tym – szczepami patogennymi *E. coli* – występują stosunkowo często. Interpretacja wyników posiewów bakteriologicznych wykonanych z wycinków narządów wewnętrznych, pobranych podczas sekcji padłych zwierząt, powinna uwzględniać fakt przechodzenia przez *E. coli* bariery jelitowej w stanach agonalnych i przenoszenie się jej z krwią do różnych narządów. Jednakże doświadczenia własne pozwalają na wysunięcie tezy, iż *E. coli* jest patogenem niedocenianym i pomijanym w problemach hodowlanych u małych zwierząt, podczas gdy stwarza ona realne zagrożenie zdrowia i życia młodych kociąt, nawet w hodowlach o dobrym statusie zoohigienicznym.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Malicki K., Binek M., 2004. Zarys klinicznej bakteriologii weterynaryjnej t. II, SGGW Warszawa.
- [2] Lechowski R., 2007. Pediatria weterynaryjna. Elsevier, Urban i Partner, J.D. Hoskins, I. Wydanie polskie – Wrocław.
- [3] Thoresen S.I., Bredal W.P., de Sande R., 2002. Diagnosis, treatment and long-term follow-up of bilateral, upper urinary tract infection in a cat. J. Feline Med. Surg., 4, 213–220.



## ASPEKTY KLINICZNE BADANIA ULTRASONOGRAFICZNEGO KLATKI PIERSIOWEJ PSÓW NIEKARDIOGENNYCH

### CLINICAL ASPECTS OF ULTRASONOGRAPHY IN NON-CARDIAC THORACIC CASES OF DOGS

Joanna Sowa, Wojciech Kinda, Justyna Ostrowska, Wojciech Atamaniuk

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Pracownia Diagnostyki Obrazowej Katedry i Kliniki Chirurgii,  
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: sowa.wet@gmail.com

Radiografia (RTG) jest podstawową metodą diagnostyki obrazowej w niekardiogennych chorobach klatki piersiowej u psów. Jak każda metoda diagnostyczna obarczona jest ona pewnymi ograniczeniami, w tym przypadku zbyt słabym kontrastem niepowietrznych tkanek miękkich. Jednoznaczna ocena radiograficzna klatki piersiowej ulega znacznemu pogorszeniu w przypadku obecności płynu w jamach opłucnowych.

**Cel prac:** Oszacowanie możliwości badania ultrasonograficznego (USG) w obrazowaniu klatki piersiowej oraz jego przydatności w diagnostyce chorób klatki piersiowej.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na pacjentach skierowanych do Pracowni Diagnostyki Obrazowej Katedry i Kliniki Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu., za pomocą aparatu Phillips EnVisor, przy użyciu sondy mikrokonweksowej o częstotliwości 5–8 MHz, sondy konweksowej o częstotliwości 2–5 MHz, sondy liniowej o częstotliwości 3–12 MHz i sondy liniowej sterowanej fazowo o częstotliwości 8 MHz. Do badania USG klatki piersiowej pacjenci kwalifikowani byli przy podejrzeniu obecności płynu w jamach opłucnowych lub pęknięcia przepony, albo na podstawie uprzedniego badania RTG. Porównano prawidłowy obraz USG i obraz patologiczny w przypadku wybranych chorób tkanki płucnej, śródpiersia, jamy opłucnej oraz ściany klatki piersiowej.

**Wyniki i omówienie:** Pomimo ograniczeń, jakie stawiają powietrzna tkanka płucna oraz żebra, badanie USG struktur klatki piersiowej może być użyteczne. Do oceny USG dostępne są peryferyjnie położone zmiany płucne oraz zmiany wychodzące ze ściany klatki piersiowej. Doskonałym oknem akustycznym, umożliwiającym ocenę struktur położonych głębiej, jest obecność płynu w jamie opłucnej. Badanie USG klatki piersiowej może być cennym uzupełnieniem badania RTG w diagnostyce chorób płuc, śródpiersia, jamy opłucnej oraz ściany klatki piersiowej,

#### Piśmiennictwo:

- [1] Pennick D., d'Anjou M.A. Atlas of Small Animal Ultrasonography, Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- [2] Barr F. J., Gaschen L., BSAVA Manual of Canine and Feline Ultrasonography.
- [3] Spattini G., Rossi F., Vignoli M., Lamb Ch.R., 2003. Use of ultrasound diaphragmatic rupture in dogs and cats, VetMB3, Veterinary Radiology & Ultrasound, Vol. 44:2, 226–230.
- [4] Reichle J.K., Wisner E.R., 2000. Non-Cardiac Thoracic Ultrasound in 75 feline and canine patients. Vet. Radiol. Ultrasound, Vol. 41, 2, 154–162.
- [5] Larson M.M., 2009. Ultrasound of the Thorax (Noncardiac), Vet. Clin. Small. Anim. 39, 733–745.
- [6] Schwarz T., Johnson V., BSAVA Manual of Canine and Feline Thoracic Imaging. BSAVA.



## ENDOSKOPIA W ROZPOZNAWANIU ZMIAN NOWOTWOROWYCH JAM NOSOWYCH U PSÓW – OPIS PRZYPADKU

### ENDOSCOPY IN THE DIAGNOSIS OF NASAL TUMOR IN THE DOG – A CASE REPORT

Jolanta Spuzak<sup>1</sup>, Marcin Jankowski<sup>1</sup>, Krzysztof Kubiak<sup>1</sup>, Maciej Grzegory<sup>1</sup>,  
Kamila Glińska-Suchocka<sup>1</sup>, Agnieszka Hałoń<sup>2</sup>, Nicpoń Józef<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: jolanta.spuzak@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Akademia Medyczna we Wrocławiu, Wydział Lekarski, Katedra Patomorfologii i Zakład Patomorfologii, ul. Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław

Badanie endoskopowe nosa określane jest jako rinoskopia i obejmuje badanie jam nosowych (rinoskopia przednia) oraz okolicy nozdrzy tylnych (rinoskopia tylna). Wskazaniami do rinoskopii są: przewlekły wypływ z nosa, krwawienie z nosa, przewlekłe kichanie, szmery nosowe, zmiany symetryczności okolicy trze-wioczaszki, bolesność okolicy nosa oraz podejrzenie obecności ciała obcego [1].

**Cel pracy:** Przedstawienie własnych doświadczeń związanych z zastosowaniem endoskopii w rozpoznawaniu zmian nowotworowych jam nosowych u psów na podstawie opisu przypadku klinicznego.

**Materiał i metody:** Opis przypadku dotyczy psa, golden retrievera, samicy, w wieku 11 lat. Pies ten został skierowany do pracowni endoskopowej w celu wykonania rinoskopii, ponieważ stosowane wcześniej leczenie przy użyciu antybiotyków (amoksycylina z kwasem klawulanowym, doksycyklina, azytromycyna) oraz glikokortykosterydów (prednizon) nie przyniosło efektów. U ww. psa postępowanie diagnostyczne przeprowadzono wg następującego schematu: wywiad oraz badania: kliniczne, laboratoryjne krwi, radiologiczne, endoskopowe, histopatologiczne. Rinoskopię tylną przeprowadzono fiberoskopem Olympus GIF XQ-20, natomiast rinoskopię przednią endoskopem sztywnym Olympus A5290 A. Wycinki ze zmian rozrostowych pobrano kleszczykami biopsyjnymi Olympus FB-54K-1.

**Wyniki i omówienie:** U psa stwierdzono następujące objawy kliniczne: wypływ z nosa trwający od ok. 3 mies. początkowo o charakterze śluzowym, a następnie podbarwiony na kolor brunatny oraz charczenie. W badaniach laboratoryjnych krwi nie stwierdzono odchyżeń od wartości referencyjnych. W badaniu radiologicznym stwierdzono zacinienie prawej jamy nosowej. Podczas rinoskopii tylnej obserwowano silnie zwężone światło nozdrzy tylnych, w prawym nozdrzu tylnym widoczna była zmiana rozrostowa o nierównej powierzchni, konsystencji kruchej, a błona śluzowa tej okolicy była zaczerwieniona i obrzęknięta. Rinoskopia przednia prawej jamy nosowej była znacznie utrudniona ze względu na obecność bardzo dużej ilości silnie ciągnącej się wydzieliny barwy brunatnej oraz tendencji do krwawienia. Natomiast w badaniu lewej jamy nosowej stwierdzono prawidłowe jej światło, błona śluzowa była zaczerwieniona i obrzęknięta, a struktura małżowin nosowych zachowana. Ze zmian rozrostowych z okolicy nozdrzy tylnych pobrano bioptaty do badania histopatologicznego. Na podstawie tego badania rozpoznano raka płaskonabłonkowego rogowaciejącego (*carcinoma planoepitheliale keratodes*). Zmiany nowotworowe jam nosowych u psów najczęściej mają charakter złośliwy. Są to zwykle gruczolakoraki, a rzadziej raki płaskonabłonkowe nierogowaciejące oraz rogowaciejące [2]. Rinoskopia jest bardzo przydatną techniką diagnostyczną, gdyż umożliwia ona bezpośrednią ocenę badanego narządu, jak również pobranie materiału do dalszych badań laboratoryjnych, dzięki temu pozwala na uściślenie diagnozy [1].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Nicpoń J., Kubiak K., 2000. Badanie endoskopowe psów i kotów. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu.
- [2] Sapieryński R., 2010. Onkologia praktyczna psów i kotów. Elsevier Urban &Partner, Wrocław.



## CHARAKTER PRZEPŁYWU NACZYNIOWEGO W T. JĄDROWEJ A JAKOŚĆ NASIENIA PSA

### TESTICULAR BLOOD FLOW AND SPERM QUALITY IN THE DOG

Ewa Stańczyk, Agnieszka Antończyk, Michał Dziecioł, Jan Twardoń, Wojciech Nizański

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, 50-366 Wrocław pl. Grunwaldzki 49, ewa.stanczyk@up.wroc.pl

W andrologii człowieka ultrasonograficzne badanie dopplerowskie przepływu w t. jądrowej odgrywa istotną rolę w ocenie przyczyn niepłodności męskiej. Indeksy oporowe: indeks pulsacyjny (PI) i indeks oporności (RI), a także maksymalna prędkość skurczowa (SPV), są uznawane za wiarygodne wskaźniki jakości spermatogenezy. U psów dane dotyczące zależności pomiędzy przepływem naczyniowym a jakością nasienia nie są dostępne.

**Materiał i metody:** W przedstawionej pracy badaniu USG z oceną przepływu przez t. jądrową oraz szczegółowej analizie nasienia poddano 32 kliniczne zdrowe samce. Na podstawie wyników analizy nasienia zwierzęta zostały podzielone na dwie grupy: A – 19 samców o prawidłowej jakości nasienia oraz B – 13 samców oligoteratozoospermicznych (OAT). Porównano pomiędzy grupą A i B wartości parametrów przepływu naczyniowego: SPV, prędkość końcowo-rozkurczową (EDV), stosunek maksymalnej prędkości skurczowej do prędkości końcowo-rozkurczowej (SV/DV), RI i PI. Dla grup A i B obliczono współczynniki korelacji pomiędzy parametrami przepływu a parametrami jakości nasienia: (koncentracja nasienia, całkowita liczba plemników, ruchliwość MOT, ruch progresywny PMOT, odsetek plemników prawidłowych, odsetek plemników żywych), a także objętością jąder, wiekiem i wagą zwierząt.

**Wyniki i omówienie:** Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi parametrami przepływu w grupach A i B. Nie były one również znacząco skorelowane z PMOT, odsetkiem plemników prawidłowych, wiekiem ani wagą zwierząt. Wykazano ujemną korelację pomiędzy parametrami przepływu: RI, PI i SV/DV a koncentracją nasienia (odpowiednio  $r = -0,45$ ;  $-0,46$ ;  $-0,46$ ,  $P < 0,05$ ) i całkowitą liczbą plemników (odpowiednio  $r = -0,45$ ;  $-0,46$ ;  $-0,46$ ,  $P < 0,05$ ). Wymienione wskaźniki przepływu wykazały także ujemną korelację z ruchliwością nasienia (odpowiednio  $r = -0,47$ ;  $-0,46$ ;  $-0,50$ ,  $P < 0,05$ ). Ponadto wskaźnik SV/DV wykazał ujemną korelację z odsetkiem plemników żywych ( $r = -0,43$ ,  $P < 0,05$ ). Przedstawione wyniki to pierwsza próba porównania parametrów przepływu w t. jądrowej u samców płodnych i samców o obniżonej płodności. Po raz pierwszy wykazano, że ilość produkowanego nasienia, odzwierciedlona przez całkowitą liczbę plemników i koncentrację nasienia jest skorelowana z przepływem przez t. jądrową. Badanie dopplerowskie może więc być pomocne w pośredniej ocenie funkcjonalnych i strukturalnych zmian zachodzących w jądrach, ponieważ jakość przepływu naczyniowego może ulegać zmianom w wyniku degeneracji narządu. Brak statystycznie istotnych różnic pomiędzy wartościami parametrów przepływu w grupie A i B uniemożliwia zastosowanie badania dopplerowskiego jako jedynej techniki oceny funkcji jąder. Ustalenie wartości granicznych parametrów przepływu wymaga dalszych badań na dużej grupie zwierząt, u których znane byłoby patofizjologiczne podłoże upośledzonej funkcji jąder.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Günzel-Apel A.R., Möhrke C., Poulsen Nautrup C., 2001. Colour-coded and pulsed Doppler sonography of the canine testis, epididymis and prostate gland: physiological and pathological findings. *Reprod. Domest. Anim.* 36, 236-40
- [2] Gumbsch P., Gabler C., Holzmann A., 2002. Colour-coded duplex sonography of the testes of dogs. *Vet. Rec.*, 151, 140-4.
- [3] Biagiotti G., Cavallini G., Modenini F., Vitali G., Gianaroli L., 2002. Spermatogenesis and spectral echocour Doppler traces from the main testicular artery. *BJU Int.*, 90, 903-8.
- [4] Pinggera G.M., Mitterberger M., Bartsch G., Strasser H., Gradl J., Aigner F. et al., 2008. Assessment of the intratesticular resistive index by colour Doppler ultrasonography measurements as a predictor of spermatogenesis. *BJU Int.*, 101, 722-6.



## PRZYDATNOŚĆ BIOMETRII PŁODOWEJ DO WYZNACZANIA TERMINU PORODU W DRUGIEJ POŁOWIE CIĄŻY U KOTA

### ASSESSMENT OF FOETAL BIOMETRY FOR PREDICTION OF PARTURITION DATE IN THE SECOND HALF OF PREGNANCY IN THE CAT

Ewa Stańczyk, Jan Lorenc, Jan Twardoń, Wojciech Nizański

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, ewa.stanczyk@up.wroc.pl

Znajomość terminu porodu jest istotna zarówno z punktu widzenia właściciela – hodowcy, jak i lekarza weterynarii. Pozwala na odpowiednie zorganizowanie porodu, zaplanowanie pomocy porodowej oraz wyznaczenie terminu cesarskiego cięcia. Określanie terminu porodu na podstawie ultrasonograficznych pomiarów części ciała płodu oraz struktur pozapłodowych, jest techniką przeniesioną z gruntu medycyny człowieka. W medycynie weterynaryjnej ta metoda jest z powodzeniem stosowana do wyznaczenia terminu porodu u psów, natomiast w przypadku kotów, które stanowią coraz większy odsetek pacjentów w lecznicach weterynaryjnych jest rzadko stosowana. Do tej pory dwóch autorów zaproponowało równania, za pomocą których jest możliwe obliczenie wieku płodowego i wyznaczenie terminu porodu. W literaturze brak jednak prac badających skuteczność wyznaczenia terminu porodu na ich podstawie. Celem przedstawionej pracy jest porównanie przydatności wymienionych równań do wyznaczenia terminu porodu u kotów.

**Materiał i metody:** Badaniu ultrasonograficznemu poddano 20 ciężarnych kotek. Wszystkie kotki badano w drugiej połowie ciąży (od 30. dnia). W czasie badania ultrasonograficznego dokonywano pomiaru wymiaru dwuciemiennowego (BP). Średni wynik z 5 dokonanych pomiarów podstawiano do wzorów zaproponowanych przez Beccaglię i wsp. [1] oraz Zambeliego i wsp. [2]. Otrzymane wyniki porównywano następnie z rzeczywistym terminem porodu i wyznaczano błąd pomiaru. Następnie określano odsetek zwierząt, u których wyznaczono termin porodu z dokładnością do  $\pm 2$  oraz  $\pm 3$  dni.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie wzoru zaproponowanego przez Beccaglię i wsp. wyznaczono terminy porodów z dokładnością do 2 dni u 75% badanych zwierząt (15/20), natomiast z dokładnością do 3 dni u 90% badanych kotek (18/20). Na podstawie wzorów zaproponowanych przez Zambelliego i wsp. [2] terminy porodów z dokładnością do 2 dni wyznaczono tylko u 20% badanych kotek (4/20), a z dokładnością do 3 dni u 30% badanych zwierząt (6/20).

Przedstawione wyniki wskazują, że skuteczność wyznaczenia terminu porodu na podstawie wzoru zaproponowanego przez Beccaglię i wsp. [1] jest wysoka, równanie może być więc z powodzeniem stosowane do wyznaczenia terminu porodu u kotów. Natomiast wyniki otrzymane na podstawie równania zaproponowanego przez drugą grupę badaczy [2] nie mogą być uznane za wystarczająco precyzyjne i autorzy nie polecają ich stosowania w praktyce klinicznej.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Beccaglia M., Anastasi P., Grimaldi E., Rota A., Faustini M., Luvoni G.C., Accuracy of the prediction of parturition date through ultrasonographic measurement of fetal parameters in the queen. *Vet. Res. Commun.* 2008 Sep, 32 Suppl. 1, S99–101.
- [2] Zambelli D., Castagnetti C., Belluzzi S., Bassi S., Correlation between the age of the conceptus and various ultrasonographic measurements during the first 30 days of pregnancy in domestic cats (*Felis catus*). *Theriogenology*. 2002 May, 57(8), 1981–1987.





## KANAL PRZEDSIONKOWO-KOMOROWY U KOTA

## ATRIOVENTRICULAR CANAL IN CAT

Maciej Staszczuk<sup>1</sup>, Urszula Paślawska<sup>1</sup>, Agnieszka Noszczyk-Nowak<sup>1</sup>, Alicja Cepiel<sup>1</sup>,  
Adrian Janiszewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów

<sup>2</sup>Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy,  
e-mail: staszczu@gmail.com

Kanał przedsionkowo-komorowy (CAV) to bardzo rzadka wada wrodzona serca wynikająca z całkowitego lub częściowego niedorozwoju poduszczek osierdziowych. Poduszcзки osierdziowe są uwypukleniami tkanki mezenchymalnej pojawiającymi się jednocześnie na brzusznej i grzbietowej powierzchni kanału przedsionkowo-komorowego. Rozwój ich ma miejsce około 30. dnia życia płodowego. Częściowe połączenie poduszczek skutkuje pojawieniem się ubytku w przegrodzie międzyprzedsionkowej typu *ostium primum* oraz przesunięciem dokoniuszkowym obu zastawek przedsionkowo-komorowych oraz często nieprawidłową trójpłatkową zastawką mitralną. Natomiast całkowity brak połączenia poduszczek osierdziowych prowadzi do powstania pełnego CAV ze wspólną zastawką przedsionkowo-komorową i ubytkiem w przegrodzie międzyprzedsionkowej i międzykomorowej [1].

**Materiał i metody:** Badanie dotyczy dwóch kotów w wieku 4 i 6 miesięcy. Oba trafiły na konsultację kardiologiczną z powodu szmeru holosystolicznego III°. Jeden z nich miał rozwinięte wodobrzusze. W badaniu USG jamy brzusznej w obu przypadkach obserwowano powiększenie wątroby z lekko poszerzonymi naczyniami. Jeden kot miał podwyższoną liczbę leukocytów. W badaniu echokardiograficznym w projekcji przymostkowej podłużnej z prawej strony mierzono grubość końcowoskurczową i końcoworozkurczową przegrody międzykomorowej, wolnej ściany lewej komory oraz wielkość światła lewej komory. Wartości ww. parametrów były prawidłowe. W badaniu przy użyciu doplera kodowanego kolorem był widoczny i zarazem bardzo charakterystyczny obraz dla CAV – tzw. skrzydła motyla, utworzone przez kolorowe strumienie krwi płynącej we wszystkich kierunkach między przedsionkami a komorami. Wielkość lewego przedsionka i przepływ przez tętnicę płucną były prawidłowe. Z lewej strony w projekcji pięciojamowej mierzono przepływ w drodze odpływu z lewej komory. Wartości te wahały się od 1,8 do ok. 2 m/s.

**Wyniki i omówienie:** Opisana wada jest bardzo rzadka, a szczególnie u kotów. Leczenie operacyjne jest niemożliwe u pacjentów o tak małej masie ciała, dlatego zastosowano leczenie paliatywne w postaci doustnie podawanego blokera kanałów wapniowych.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Van Praagh S., Otero-Coto E., Leidenfrost R.D., Van Praagh R., 1984. Common atrioventricular canal with and without conotruncal malformations. An anatomic study of 251 postmortem cases, [in:] Nora J.J., Ta Kao A., eds., Congenital Heart disease. Causes and Processes, Mount Kisco, NY, Futura, 599.



## MIKROPRZERZUTY W WĘZŁACH CHŁONNYCH I ICH ZNACZENIE PROGNOSTYCZNE U SUK Z NOWOTWORAMI GRUCZOŁU SUTKOWEGO

### LIMPH NODE MICROMETASTASES AND THEIR PROGNOSTIC VALUE IN FEMALE DOGS WITH MAMMARY GLAND TUMOURS

Marek Szczubiał<sup>1</sup>, Wojciech Łopuszyński<sup>2</sup>, Roman Dąbrowski<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, <sup>2</sup>Katedra Anatomii Patologicznej, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: marek.szczubial@up.lublin.pl

Nowotwory gruczołu sutkowego należą do najczęściej występujących nowotworów u psów. W około 50% przypadków proces ma charakter złośliwy. Wysoki odsetek wznowy i przerzutów po leczeniu operacyjnym nowotworów złośliwych gruczołu sutkowego skłania do poszukiwania wskaźników prognostycznych, na podstawie których możliwe byłoby określenie prawdopodobnego przebiegu choroby po usunięciu złośliwego guza. W przypadku nowotworów sutka u kobiet istotnym czynnikiem mającym wpływ na rokowanie i leczenie jest obecność przerzutów nowotworowych w regionalnych węzłach chłonnych. Opinie na temat wartości prognostycznej zajęcia procesem nowotworowym węzłów chłonnych u suk z nowotworami gruczołu sutkowego są podzielone. Ostatnio zwrócono uwagę na obecność w węzłach chłonnych mikroprzerzutów, tj. ognisk komórek nowotworu o średnicy od 0,2 do 2 mm, i ich znaczenie w prognozowaniu dalszego przebiegu choroby nowotworowej u suk, po usunięciu złośliwego guza z gruczołu sutkowego.

**Cel badań:** Ocena wartości prognostycznej obecności mikroprzerzutów w regionalnych węzłach chłonnych u suk z nowotworami złośliwymi gruczołu sutkowego.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 54 sukach, u których zdiagnozowano pojedynczy nowotwór złośliwy zlokalizowany w 4 lub 5 sutku. Wszystkie suki poddano zabiegowi częściowej mastektomii, polegającej na usunięciu sutków 4. i 5. wraz z węzłem chłonnym pachwinowym. Rozpoznanie nowotworu dokonywano na podstawie badania histopatologicznego wycinków usuniętego guza. W celu wykrycia komórek nowotworowych w węzłach chłonnych wykonywano badanie immunohistochemiczne z zastosowaniem mysiego monoklonalnego pierwotnego przeciwciała przeciwko cytokeratynie klon AE1/AE3 (Dako) w rozcieńczeniu 1:100. Opierając się na wynikach badania immunohistochemicznego węzłów chłonnych zwierzęta podzielono na 3 grupy. Grupa A – suki bez przerzutów w węzłach chłonnych; grupa B – suki z mikroprzerzutami (ogniska komórek nowotworowych o średnicy  $\leq 2$  mm) w węzłach chłonnych; grupa C – suki z przerzutami o średnicy  $> 2$  mm w węzłach chłonnych. Po operacji suki były poddawane badaniom kontrolnym w odstępach 6 miesięcy przez okres 24 miesięcy w celu wyznaczenia czasu remisji i czasu przeżycia suk. Dzięki tym wskaźnikom określono wartość prognostyczną obecności mikroprzerzutów w usuniętych, regionalnych węzłach chłonnych.

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone badania wykazały, że średni czas remisji u suk z mikroprzerzutami nowotworu z gruczołu sutkowego w regionalnych węzłach chłonnych wynosił  $15,25 \pm 9,56$  miesięcy i był niższy w porównaniu ze średnim czasem remisji u suk bez przerzutów w węzłach chłonnych ( $18,24 \pm 6,93$ ) oraz wyższy w porównaniu ze średnim czasem remisji u suk z przerzutami w regionalnych węzłach chłonnych o średnicy większej niż 2 mm ( $7,43 \pm 6,17$ ). Jednak różnice nie osiągnęły istotności statystycznej. Średni czas przeżycia po mastektomii w grupie suk z mikroprzerzutami wyniósł  $15,76 \pm 8,96$  miesięcy i nie różnił się statystycznie istotnie od średniego czasu przeżycia suk bez przerzutów ( $19,03 \pm 6,44$ ) i suk z przerzutami o średnicy większej niż 2 mm ( $8,29 \pm 6,81$ ). Uzyskane wyniki badań wskazują, że obecność mikroprzerzutów nowotworu z gruczołu sutkowego suk w regionalnych węzłach chłonnych nie ma znaczenia prognostycznego.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Matos A., Faustyno A., Lopes C., Rutteman G., Gartner F., 2006. Detection of lymph node micrometastases in malignant mammary tumours in dogs by cytokeratin immunostaining. *The Veterinary Record*, 158, 626–630.



## PORÓWNANIE METOD ROZPOZNAWANIA GARDIOZY U ZWIERZĄT TOWARZYSZĄCYCH – OBSERWACJE WŁASNE W LATACH 2002–2012

### THE COMPARISON OF DIAGNOSTIC METHODS IN GIARDIA INFECTIONS IN DOGS AND CATS – OWN OBSERVATIONS BETWEEN 2002–2012

Agnieszka Świątalska

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów, 10, 80-316 Gdańsk, e-mail: a.swiatalska@gdansk.wiw.gov.pl

Czynnikiem chorobotwórczym gardiozy są pierwotniaki wiciowe z rodzaju *Giardia*. W piśmiennictwie określa się obecność tych pasożytów w około 30% próbek pochodzących zarówno od kotów, jak i psów domowych.

**Cel pracy:** Określenie ekstensywności występowania pasożytów *Giardia* u zwierząt towarzyszących oraz porównanie wartości diagnostycznej metod ich wykrywania na potrzeby prywatnej praktyki weterynaryjnej.

**Materiał i metody:** Zbadano 180 próbek kału, w tym 127 pochodzących od psów i 53 od kotów. Zwierzęta nie wykazywały objawów klinicznych, pochodziły z terenu trójmiasta i okolic. Kał badano 3 metodami: metodą mikroskopową, metodą flotacji (wg Fülleborna-Willisa) oraz testem SNAP *Giardia*. Badanie mikroskopowe polegało na wykrywaniu cyst pasożyta w dwóch wersjach: a) w kropli kału wymieszanej z kroplą PF oraz b) w rozmazie kału barwionego płynem Lugola. Test SNAP *Giardia* jest testem immunoenzymatycznym, którym w kale badanych zwierząt wykrywa się białko sekrecyjne CWP1, powstające w fazie tworzenia się cyst (encystacji).

#### Wyniki i omówienie:

	Kał kotów liczba wyników pozytywnych /ekstensywność %	Kał psów liczba wyników pozytywnych /ekstensywność %
Metoda mikroskopowa	5 / 9,4%	14 / 11,0%
Metoda Flotacji	3 / 5,6%	7 / 5,5%
Test SNAP <i>Giardia</i>	9 / 16,9%	27 / 21,25%

Przedstawione wyniki wskazują na dwukrotnie większą czułość testu SNAP w porównaniu z badaniem mikroskopowym (w obu wersjach wyniki identyczne), co przy deklarowanej przez producenta swoistości 99% pozwala stwierdzić jego najwyższą wartość diagnostyczną; metodę flotacji należy uznać za nieprzydatną. Biorąc pod uwagę przesiewowy charakter badań (brak objawów choroby, co pozwala na określenie niskiej intensywności inwazji), można przyjąć, że metoda mikroskopowa również jest przydatna do diagnozowania gardiozy. Wybór między czulszym i droższym testem SNAP a tańszą i mniej czułą metodą mikroskopową należy do lekarza weterynarii.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Leib M.S., Zajac A.M., Gardioza u psów i kotów, *Weterynaria po Dyplomie* 07/2000, 57–65.
- [2] Olson M.E., Leonard N.J., Strout J., 2010. Prevalence and diagnosis of *Giardia* infection in dogs nad cats using a fecal antygen test and fecal smear, *Canadian Vet. Journal*, 6, 640–642.



## WYNIKI CHIRURGICZNEGO LECZENIA 9 KASTROWANYCH SUK Z WRODZONYM PRZEMIESZCZENIEM MOCZOWODÓW I PĘCZERZEM WEWNĄTRZMIEDNICZNYM

### SURGICAL TREATMENT OF URETERAL ECTOPIA AND INTRAPELVIC URINARY BLADDER IN 9 NEUTERED BITCHES

Piotr Trębacz, Piotr Jurka

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Psów i Kotów z Kliniką, e-mail: piotr\_trebacz@sggw.pl

Wrodzone przemieszczenie (ektopia) moczowodów jest najczęstszą przyczyną wczesnego nietrzymania moczu u psów. Wyróżniane są 2 rodzaje ektopii moczowodowej (śródcieniowa i zewnątrzścienna). U psów najczęściej stwierdzana jest jednostronna ektopia śródcieniowa (moczowód biegnie w ścianie pęcherza moczowego, omija jego światło i otwiera się do światła cewki moczowej). Skuteczne leczenie ektopii wymaga przeprowadzenia operacji korygującej nieprawidłowe ujście moczowodu. Najlepsze wyniki leczenia uzyskiwane są u młodych zwierząt. U starszych osobników wrodzonemu przemieszczeniu moczowodów mogą towarzyszyć m. in. nawrotowe zakażenia układu moczowego i niedorozwój pęcherza moczowego [1]. W dostępnej literaturze weterynaryjnej brak jest dostatecznej ilości informacji dotyczących wyników leczenia dorosłych psów z wrodzonym przemieszczeniem moczowodów i niedorozwojem pęcherza moczowego.

**Materiał i metody:** Leczeniu operacyjnemu poddano 9 kastrowanych suk (w wieku  $4,5 \pm 2$  lata i masie ciała  $34,6 \pm 6,59$  kg), u których stwierdzono nietrzymanie moczu wywołane wrodzonym przemieszczeniem moczowodów i niedorozwojem pęcherza moczowego. Do czasu przeprowadzenia operacji leczono psy za pomocą fenylopropanoloaminy, estriolu i antybiotyków. Takie leczenie przynosiło jedynie przejściowe złagodzenie objawów klinicznych. Wrodzone przemieszczenie moczowodów stwierdzano na podstawie wyników rentgenowskiego badania kontrastowego układu moczowego (urografia dożylna) i badania śródoperacyjnego. Podczas wykonywania badań kontrastowych u wszystkich zwierząt dodatkowo stwierdzono mały pęcherz moczowy (podejrzenie niedorozwoju), który był przemieszczony do jamy miednicznej. Jamę brzuszną otwierano podłużnym cięciem o dł. 7 cm (minilaparotomia). Kontrolne badania kontrastowe układu moczowego przeprowadzono po 60 i 90 dniach od operacji.

**Wyniki:** U 3 leczonych suk stwierdzono obustronne zewnątrzścienne przemieszczenie moczowodów. U 2 obustronne wewnętrzścienne, a u pozostałych 4 występowały podwójne ujścia moczowodów. U psów z ektopią zewnątrzścienną przeprowadzono replantację moczowodów (*ureteroneocystostomia*) w obrębie trójkąta pęcherza moczowego. U osobników z ektopią wewnętrzścienną wykonywano stomatyzację końcowych odcinków moczowodów (*neoureterostomia*), a u psów z podwójnym ujściem moczowodów zamykano ujścia znajdujące się doogonowo od trójkąta pęcherza moczowego. Następnie podwieszano pochwę. Mocowano ją do ścięgien przedłonowych przerywanymi szwami z nylonu. W badaniach kontrolnych przeprowadzonych po 60 i 90 dniach od operacji wszystkie suki trzymały mocz. W badaniach kontrastowych układu moczowego nie stwierdzano zmian sugerujących ektopię moczowodową. U wszystkich zwierząt pęcherze moczowe były prawidłowej wielkości i znajdowały się w jamie brzusznej. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że jednoczesna korekcja ektopowych moczowodów i podwieszenie pochwy są skutecznymi metodami leczenia wrodzonego przemieszczenia moczowodów i niedorozwoju pęcherza moczowego u dorosłych psów. Szybkie ustąpienie objawu nietrzymania moczu u operowanych zwierząt związane było z prawidłowo przeprowadzoną operacją korygującą wrodzone przemieszczenie moczowodów i szybkim powiększaniem się objętości pęcherza moczowego. Leczone zwierzęta wymagają dalszej obserwacji klinicznej. U niektórych psów z wrodzonym przemieszczeniem moczowodów może dochodzić do nawrotu nietrzymania moczu w dłuższym okresie czasu po operacji, pomimo początkowych dobrych wyników leczenia [1].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Ho L.K., Troy G.C., Waldron D.R., 2008. Clinical outcomes of surgically managed ectopic ureters in 33 dogs. *Journal of American Animal Hospital Association* 2011; 47: 196–202. 2. Holt PE. *Urological disorders of the dog & cat*. New York, Manson, 153–158.



## ROPNIAK KANAŁU KRĘGOWEGO U MŁODEGO KOTA SPINAL EPIDURAL EMPYEMA IN AN IMMATURE CAT

Piotr Trębacz, Joanna Bonecka, Jacek Sterna

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, piotr\_trebacz@sggw.pl

Ropniak kanału kręgowego u kotów występuje bardzo rzadko. Do tej pory opisano 2 takie przypadki [1, 2]. W niniejszym doniesieniu przedstawiono przypadek młodego kota, u którego wystąpił nagły bezwład kończyn miednicznych połączony z utratą czucia bólu głębokiego. Przyczyną choroby był ropniak kanału kręgowego w lędźwiowym odcinku kręgosłupa.

**Materiał i metody:** Do badania dostarczono kota rasy europejskiej krótkowłosej w wieku 5 miesięcy i masie ciała 2 kg. U zwierzęcia od 4 dni występowały zaburzenia chodu. W dniu badania stwierdzono bezwład kończyn miednicznych z utratą czucia bólu głębokiego. Na podstawie wyników badania neurologicznego stwierdzono mielopatię na wysokości odcinka Th3 – L3 rdzenia kręgowego. W badaniach mielograficznym i mielo-CT w kanale kręgowym stwierdzono obecność masy o wysyceniu tkanek miękkich. Znajdowała się ona na wysokości kręgu L 4 i uciskała worek oponowy prawostronnie od strony dogrzebietowej. Po wykonaniu prawostronnej hemilaminektomii na wysokości kręgu L 4 odesano z kanału kręgowego około 1 ml ropy. Dodatkowo usunięto ziarninę zapalną uciskającą rdzeń kręgowy.

**Wyniki i omówienie:** W okresie pooperacyjnym obserwowano szybką poprawę stanu zwierzęcia. Czućcie bólu głębokiego w kończynach miednicznych powróciło po 3 dniach od zabiegu. W badaniu histopatologicznym tkanki usuniętej z kanału kręgowego stwierdzono zapalenie ropne. W badaniu bakteriologicznym odesanej ropy nie stwierdzono obecności bakterii.

W badaniu kontrolnym po 12 tygodniach od operacji zwierzę poruszało się prawidłowo. W badaniu neurologicznym stwierdzono jedynie obecność niewielkich zaburzeń priopriocepcji w kończynach miednicznych.

Mielografia i mielo-CT, są przydatnymi metodami diagnostycznymi w wykrywaniu ucisku rdzenia kręgowego u kotów wywołanego przez ropniaka kanału kręgowego. Skuteczne leczenie choroby wymaga przeprowadzenia zabiegu operacyjnego i odbarczenia rdzenia kręgowego. Ropniak kanału kręgowego powinien być brany pod uwagę w rozpoznaniu różnicowym u kotów z szybko postępującą mielopatią.

### Piśmiennictwo:

- [1] Granger N., Hidalgo A., Leperlier D., Gnirs K., Thibaund J.L., Delise F., Blot S., 2007. Successful treatment of cervical spinal epidural empyema secondary to grass awn migration in a cat. *J. Fel. Med. Surg.*, 9, 340–345.
- [2] Maeta N., Kenda T., Sasaki T., Morita T., Furukawa T., 2010. Spinal epidural empyema in a cat *J. Fel. Med. Surg.*, 12, 494–497.





## ZASTOSOWANIE LASERÓW W STOMATOLOGII WETERYNARYJNEJ

### THE LASER USE IN VETERINARY DENTISTRY

Michał Wąsowicz<sup>1</sup>, Bartosz Matejkowski<sup>2</sup>, Maciej Cićkiewicz<sup>3</sup>, Szczepan Stelmach<sup>4</sup>,  
Karolina Barszcz<sup>1</sup>, Marta Kupczyńska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Morfologicznych, 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159,

<sup>2</sup>Prywatna Praktyka Stomatologiczna,

<sup>3</sup>Warszawski Uniwersytet Medyczny, Instytut Stomatologii, Zakład Stomatologii Zachowawczej, Szpital Dzieciątka Jezus, 00-246 Warszawa, ul. Miodowa 18,

<sup>4</sup>Warszawski Uniwersytet Medyczny, 02-001 Warszawa, ul. Żwirki i Wigury 61, e-mail: [michal.wasowicz@interia.eu](mailto:michal.wasowicz@interia.eu)

Nazwa „laser” jest akronimem od **L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation, określającym urządzenie działające dzięki wzmocnieniu światła poprzez wymuszoną emisję promieniowania. Laseroterapia jest to grupa zabiegów terapeutycznych, w których wykorzystuje się lasery medyczne.

**Cel pracy:** Ocena praktycznego wykorzystania laserów w stomatologii weterynaryjnej.

**Materiał i metody:** Obserwacje przeprowadzono na zwłokach 5 psów i 5 kotów różnych ras, obojga płci, w wieku 1–8 lat. Wykonano następujące zabiegi: gingiwektomia, gingiwoplastyka, korekcja podniebienia miękkiego, frenektomia, tonsilektomia oraz usunięcie nadziąsłaka. Posługiwano się laserem diodowym typu FONALaser o trzech trybach działania: o stałej, zmiennej i pulsowej fali wiązki oraz o następujących parametrach: długość fali 970nm +/- 15nm ( $\lambda$ ), moc 0,5–4 W, częstotliwość 1–100 Hz.

**Wyniki i omówienie:** Wszystkie zabiegi wykonano u przedstawicieli obu gatunków. Gingiwoplastykę połączoną z gingiwektomią przeprowadzono w obrębie umiarkowanie zmienionych tkanek miękkich jamy ustnej, charakteryzujących się ograniczonym rozrostem dziąsła. W tych przypadkach laser wykorzystano do usunięcia patologicznego rozrostu dziąsła i koagulacji tkanek miękkich. Drugim typem postępowania było przeprowadzenie frenektomii szczękowej i językowej. Korekcję podniebienia miękkiego przeprowadzono u intubowanych zwierząt w pozycji grzbietowej. Zabieg tego typu wykonywany jest głównie u psów (rzadziej kotów) z zespołem brachycefaliczności. Wykonano również obustronną tonsillektomię migdałków podniebnych oraz usunięcie nadziąsłaka. Głównym zastosowaniem laserów jest chirurgia tkanek miękkich. Podczas działania energii lasera struktura szkliwa, zębiny, cementu i tkanek miękkich powinna zostać zachowana i niezmieniona. Pożądany efekt uzyskuje się, gdy chorobowo zmieniona tkanka dobrze absorbuje odpowiednio dobraną długość fali, zaś nie uszkadza zdrowych elementów zęba. Zasada działania lasera funkcjonuje dzięki metodzie termicznej ablacji. W trakcie cięcia dochodzi do rozpadu tkanek poprzez natychmiastowy proces absorpcji, topnienia i odparowywania. Eksponowane odpowiednią długością fali komórki absorbują skupioną energię świetlną. W wyniku temperatura gwałtownie wzrasta, wywołując mikroeksplozję zwaną spalacją. Skala absorpcji promieniowania uwarunkowana jest: długością fali lasera ( $\lambda$ ), mierzoną w nanometrach (nm); mocą eklektyczną urządzenia mierzoną w watach (W); czasem ekspozycji i składem tkanki [1]. Wykorzystanie lasera w wymienionych zabiegach znacznie skróciło czas trwania i pozwoliło na ich przeprowadzenie bez zakładania szwów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Verstraete Frank J.M., Lommer Milinda J., 2012. Oral and Maxillofacial Surgery in Dogs and Cats. Saunders Elsevier.



## ZMIANY MORFOLOGICZNE W MIĄŻSZU NOWOTWORÓW W ZALEŻNOŚCI OD HISTOGENEZY I STOPNIA ZŁOŚLIWOŚCI

### MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE TUMOUR PARENCHYMA CONNECTED WITH THE HISTOGENESIS AND DEGREE OF MALIGNANCY

Marzena Wiśniewska, Iwona Otrocka-Domagala, Katarzyna Paździor, Michał Gesek, Tadeusz Rotkiewicz

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Anatomii Patologicznej, ul. M. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: marzena.wisniewska@uwm.edu.pl

Komórki nowotworowe, jak i podścielisko guza wykazują różne zmiany morfologiczne powstające pod wpływem czynników zewnętrznych i wewnętrznych. Stwierdzone zmiany morfologiczne należą do zmian wstecznych, zapaleń, zaburzeń w krążeniu i zmian postępowych, a ich powstawanie zależy od wielu czynników, wśród których duże znaczenie mają złośliwość guza, histogeneza, miejsce występowania i inne. Celem niniejszej pracy było prześledzenie zmian morfologicznych występujących w komórkach nowotworowych i tkance podścieliskowej w guzach w zależności od ich pochodzenia histogenetycznego i stopnia złośliwości.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 1506 guzach pochodzących od psów, kotów i koni, usuwanych operacyjnie lub pobieranych pośmiertnie. Wycinki guzów utrwalano w buforowanej 10% formalinie o pH 7,4, następnie zatapiano w bloczki parafinowe, a uzyskane skrawki barwiono hematoksyliną i eozyną oraz innymi metodami histopatologicznymi niezbędnymi do rozpoznania typu nowotworu. Guzy zebrano na przestrzeni pięciu lat (2007–2011). Badane nowotwory podzielono na: A) guzy pochodzenia nabłonkowego, w tym 352 nowotworów złośliwych i 99 łagodnych, B) pochodzenia mezenchymalnego, w tym 526 złośliwych i 382 łagodnych oraz C) nowotwory mieszane, w tym 88 złośliwych i 59 łagodnych.

**Wyniki i omówienie:** W komórkach nowotworowych guzów złośliwych z grupy A i B wykazano ogniska martwicy skrzepowej. W grupie A, guzów złośliwych, obok niewielkich ognisk martwicy stwierdzano cechy zwyrodnienia rogowego komórek, nacieki komórek histiocytarnych, dendrytycznych, limfocytów i leukocytów obojętnochłonnych, szczególnie na powierzchni guza. W grupie B, guzów złośliwych, martwicy towarzyszyły wynaczynienia krwi, cysty i torbiele oraz nacieki komórek limfocytarnych, histiocytów, makrofagów i komórek plazmatycznych. W pojedynczych przypadkach wynaczynienia krwi były tak znaczne, że dochodziło do powstawania cyst pokrwotocznych. W pojedynczych przypadkach stwierdzano ogniskowe występowanie nowotworu innego typu histologicznego. W grupie guzów C, złośliwych, komórki nowotworowe wykazywały wysoką aktywność mitotyczną, sporadycznie martwicę oraz małą liczbę limfocytów i makrofagów. W guzach łagodnych z grupy A, B i C martwicę stwierdzono w nielicznych nowotworach. Często stwierdzano w tych guzach nacieki komórkowe, zwłaszcza histiocytów, limfocytów, makrofagów, leukocytów i rzadziej komórek plazmatycznych. Nacieki częściej i w większej liczbie komórek występowały w nowotworach mezenchymalnych (A), rzadziej w nabłonkowych (A) i mieszanych (C). Nacieki histiocytarne stwierdzano szczególnie często w nowotworach mezenchymalnych i mieszanych wywodzących się ze skóry i jej pochodnych. W guzach tych bardzo często występowały cysty epidermoidalne. W tkance podścieliskowej niezależnie od rodzaju guza wykazywano zapalenie ropne. W guzach łagodnych stwierdzano znaczny rozplem tkanki łącznej włóknistej i włókien kolagenowych, zwłaszcza w nowotworach łagodnych pochodzenia mezenchymalnego. W podścielisku guzów mieszanych (C) stwierdzano ziarniniaki cholesterolowe, ogniska zwapnienia, i nacieki melanocytów. Tkanka łączna występująca w bardzo małej ilości w nowotworach złośliwych grup A lub w większej ilości w guzach łagodnych i niektórych złośliwych z grupy B i C była w wielu miejscach obrzękła i wykazywała cechy sklerotyzacji. Podjęte badania nad reaktywnością komórek nowotworowych i podścieliska mogą być wykorzystane w cytodiaagnostyce i terapii nowotworów u zwierząt.

#### Piśmiennictwo:

[1] Withrow J. S., Vail D.M., 2007. Small Animal Clinical Oncology. Saunders Elsevier.



## SKUTECZNOŚĆ TESTU BCB W OCENIE KOMPETENCJI ROZWOJOWEJ KOMÓREK JAJOWYCH SUK

### EVALUATION OF OOCYTE DEVELOPMENTAL COMPETENCE IN CANINE BY BCB TEST

Magdalena Woźna<sup>1</sup>, Marta Jackowska<sup>1</sup>, Bartosz Kempisty<sup>2</sup>, Dorota Bukowska<sup>1</sup>,  
Aleksandra Żuraw<sup>1</sup>, Jędrzej Maria Jaśkowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Weterynarii,  
ul. Wojska Polskiego 52, 60-628 Poznań

<sup>2</sup>Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Wydział Lekarski II, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii,  
ul. Święcickiego 6, 60-781 Poznań  
e-mail: magda.wozna@wp.pl

Podczas stosunkowo długich procesów folikulko- i oogenezy osłonka przejrzysta oocytów ssaków ulega wielu modyfikacjom. Zmiany molekularne zachodzące w osłonce przejrzystej (ZP) podczas hodowli *in vitro* (IVC) są dotychczas dobrze scharakteryzowane głównie u gatunków zwierząt gospodarskich jak: świnia czy bydło. Mniej wiadomo na temat molekularnych i funkcjonalnych zmian zachodzących w obrębie osłonki przejrzystej u psowatych, zwłaszcza w odniesieniu do aspektu dojrzewania oocytów w warunkach *in vitro* (IVM) oraz nabywania przez nie kompetencji rozwojowych.

Przeprowadzone badania mają na celu określenie profilu ekspresji genów glikoprotein osłonki przejrzystej ZP2 i ZP3 oraz rozkładu białek ZP3 i ZP4 (ZPB) w psich oocytach przed i po hodowli *in vitro* zakwalifikowanych jako rozwojowo kompetentne (BCB+) i niekompetentne (BCB-).

**Materiał i metody:** Psie kompleksy oocyt-kumulus (COC) zostały pozyskane z jajników suk będących w fazie anoestrus (27 suk) bezpośrednio po rutynowym zabiegu ovariohisterektomii. Następnie oocyty poddano hodowli przez 72 godziny w pełnowartościowym medium hodowlanym (TCM 199 z suplementacją). Przed rozpoczęciem inkubacji kompleksy COC barwiono za pomocą testu BCB (brilliant cresyl blue). Test ten umożliwia określenie aktywności dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej (G6PDH), enzymu syntetyzowanego w oocytach rozwijających się (BCB-), a nieaktywnego w oocytach, które zakończyły fazę wzrostu (BCB+). Za pomocą techniki RQ-PCR, określono poziom ekspresji mRNA ZP2 i ZP3 dla oocytów scharakteryzowanych jako BCB+ i BCB-. Ponadto stosując konfokalną analizę mikroskopową, zlokalizowano rozmieszczenie glikoprotein ZP3, jak również ZP4 w oocytach suk.

**Wyniki i omówienie:** Analizy RQ-PCR nie wykazały istotnych różnic w ekspresji ZP2 zarówno w oocytach BCB+, jak i BCB- przed IVM. Jednak po IVM ekspresja genów zarówno ZP2, jak i ZP3 wyraźnie wzrosła w oocytach niekompetentnych w porównaniu z BCB+ ( $p < 0,001$ ). Wykorzystując mikroskopię konfokalną, nie stwierdzono istotnych zmian w ekspresji białek ZP3 i ZP4 w oocytach BCB+ i BCB- przed IVM. Natomiast po przeprowadzonym dojrzewaniu *in vitro* ekspresja białka ZP3 była wyższa w BCB-, podczas gdy ekspresja ZP4 wzrosła w oocytach określonych jako BCB+. Za pomocą mikroskopii konfokalnej zlokalizowano występowanie białka ZP4 w obwodowej części cytoplazmy oraz w osłonce przejrzystej oocytów BCB+ po hodowli *in vitro*. Podczas gdy w oocytach BCB- białko ZP4 zlokalizowano zarówno w centralnej, jak i obwodowej części komórki. Białko ZP3 w obu przypadkach występowało w obwodowej części cytoplazmy. Sugeruje się, że profil ekspresji glikoprotein osłonki przejrzystej w psich oocytach jest powiązany z poszczególnym etapem dojrzewania oocytów. Ponadto ekspresja białek osłonkowych ZP jest skorelowana z kompetencjami rozwojowymi oocytów, podczas gdy ekspresja mRNA i rozmieszczenie białek ZP4 mogą być uznane za markery zdolności rozwojowych oocytów u suk.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Blackmore D.G., Baillie L.R., Holt J.E. i inni, 2004. Biosynthesis of the canine zona pellucida requires the integrated participation of both oocytes and granulosa cells. *Biol. Reprod.*, 71, 661–668.
- [2] von Witzendorff D., Ekhlasi-Hundrieser M., Dostalova Z. i inni, 2005. Analysis of N-linked glycans of porcine zona pellucida glycoprotein ZPA by MALDI-TOF MS: a contribution to understanding zona pellucida structure. *Glycobiology*, 15, 475–88.



## EFEKTY LECZENIA PSÓW Z DYSKOPATIĄ W ZALEŻNOŚCI OD SPOSOBU LECZENIA I CZASU TRWANIA OBJAWÓW NEUROLOGICZNYCH

### THE TREATMENT EFFECTS IN A DOGS WITH INTERVERTEBRAL DISC DISEASE DEPENDING ON TREATMENT PROTOCOL AND DURATION OF NEUROLOGICAL SYMPTOMS

Marcin Wrzosek<sup>1</sup>, Zdzisław Kiełbowicz<sup>2</sup>, Elżbieta Giza<sup>1</sup>, Józef Nicpoń<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych i Klinikę Koni, Psów i Kotów, <sup>2</sup>Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: marcin.wrzosek@up.wroc.pl

Choroba krążka międzykręgowego należy do najczęstszych problemów neurologicznych w codziennej praktyce lekarsko-weterynaryjnej. Przepuklina (*extrusio*) krążka międzykręgowego występuje najczęściej u ras chondrodystroficznych (jamnik, pekińczyk, welsh corgi), jednak problem ten pojawiają się także u ras niechondrodystroficznych (owczarków niemieckich, labrador, doberman) w postaci wypukliny (*protrusio*). Diagnostyka dyskopatii opiera się na badaniu klinicznym i neurologicznym oraz na badaniach obrazowych: przeglądowym zdjęciu rentgenowskim i mielografii, tomografii komputerowej z kontrastem (tzw. mielo-TK) lub rezonansie magnetycznym (MRI). Istnieje możliwość leczenia dyskopatii zarówno zachowawczo (farmakologicznie), jak i chirurgicznie.

**Cel pracy:** Ocena poprawy stanu neurologicznego po leczeniu chirurgicznym, w zależności od rodzaju zabiegu i czasu trwania objawów.

**Materiał i metody:** Leczeniu chirurgicznemu poddano 16 psów różnych ras w wieku 4–13 lat, w tym 9 psów i 7 suk. Wykonano 9 zabiegów typu ventral slot i 7 hemilaminectomii. Przed zabiegiem stan pacjenta był oceniany w skali 0–5 (ocenę efektywności zabiegu przeprowadzano po miesiącu od zabiegu).

**Wyniki i omówienie:** Sukces chirurgiczny – na podstawie poprawy stanu neurologicznego – oceniono na 62,5%. Czas od pojawienia się pierwszych objawów neurologicznych do zabiegu chirurgicznego wahał się pomiędzy 2–150 dni. Wykazano istotny wpływ długości czasu pomiędzy pojawieniem się pierwszych objawów a efektywnością leczenia. Nie wykazano wpływu wieku ani wagi na sukces terapii. Zabiegi typu ventral slot prowadziły w przypadkach pozytywnych do całkowitego ustąpienia objawów neurologicznych, jednak charakteryzowały się również częstszymi komplikacjami niż hemilaminectomia, co może świadczyć o wyższym ryzyku związanym z tego typu zabiegiem.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Morelius M., Bergadano D., Schawalder P. et al., 2007. Influence of surgical approach on the efficacy of the intervertebral disk fenestration: a cadaveric study. *J. Small Anim. Pract.*, 48, 87–92.
- [2] Arthurs G., 2009. Spinal instability resulting from bilateral mini-hemilaminectomy and pediclectomy. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.*, 22, 422–6.
- [3] Laitinen O.M., Puerto D.A., 2005. Surgical decompression in dogs with thoracolumbar intervertebral disc disease and loss of deep pain perception: a retrospective study of 46 cases. *Acta Vet. Scand* 46, 79–85.
- [4] Boag A.K., Otto C.M., Drobatsch K.J., 2001. Complications of methylprednisolone sodium succinate in dachshunds with surgically treated intervertebral disc disease. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.*, 11, 105–10.





## OBRAZOWANIE TOMOGRAFIA REZONANSU MAGNETYCZNEGO WAD ROZWOJOWYCH MÓZGU U PSÓW I KOTÓW

### MAGNETIC RESONANCE IMAGING OF THE BRAIN MALFORMATION IN DOGS AND CATS

Marcin Wrzosek, Elżbieta Giza, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: marcin.wrzosek@up.wroc.pl

Obrazowanie metodą tomografii rezonansu magnetycznego (MRI) należy do najnowszych metod diagnostyki obrazowej. MRI nie wykorzystuje promieni rentgenowskich, ale opiera się na zjawisku jądrowego rezonansu magnetycznego. MRI umożliwia szczegółową ocenę budowy ośrodkowego układu nerwowego. Wady wrodzone mózgu u psów i kotów stanowią około 5% pacjentów neurologicznych obserwowanych w praktykach lekarsko-weterynaryjnych. Do nich zaliczamy wady rozwojowe dotyczące mózgowia, czaszki, rdzenia kręgowego oraz kręgosłupa. Ze względu na zróżnicowane rokowanie dokładne rozpoznanie chorób wrodzonych i wad rozwojowych jest niezwykle ważne, do podjęcia decyzji o dalszym leczeniu lub eutanazji zwierzęcia [1–6].

**Cel pracy:** Opisanie jakościowe oraz ilościowe przypadków wad rozwojowych mózgu zdiagnozowanych za pomocą MRI.

**Materiał i metody:** Przebadano 19 pacjentów skierowanych do pracowni neurologicznej Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów w latach 2008–2011. Należało do nich 16 psów oraz 3 koty. Wśród psów 9 było rasy CKCS (w wieku 28–35 miesięcy), 4 Yorkshire teriery, 1 mops, 1 border collie, 1 mieszanec, w wieku 4–13 miesięcy (średnia 7,8). Wśród psów 10 było płci męskiej, 6 żeńskiej. Wszystkie koty (n=3) były rasy europejskiej i płci żeńskiej, w wieku 4–5 miesięcy. U wszystkich zwierząt przeprowadzono badanie kliniczne oraz neurologiczne. MRI przeprowadzono w sedacji mieszaniną medetomidyna 20 µg/kg + butorfanol 0.1mg/kg i.m. oraz wprowadzeniu w sen propofolem 2–6mg/kg i.v. Przeprowadzono badanie MRI w sekwencjach T1-zależnej poprzecznej, T2-zależnej poprzecznej, strzałkowej oraz w niektórych przypadkach koronowej, T1-zależnej poprzecznej po podaniu kontrastu (dimegluminian gadolinu w dawce 0,2 ml/kg i.v.) oraz w niektórych przypadkach FLAIR poprzecznej lub koronowej. Badanie przeprowadzono na urządzeniu GE o mocy 1.5 Tesli.

**Wyniki i omówienie:** Za pomocą badania MRI rozpoznano następujące wady rozwojowe: u 9 CKCS niedorozwój kości potylicznej (tzw. malformację typu Chiari I), wodogłowie u 4 Yorkshire terierów, 1 mopsa, 1 psa mieszańca i 1 kota, niedorozwój mózdzku u dwóch kotów oraz w 1 przypadku u psa rasy border collie przepuklinę mózgową donosową.

Badanie MRI głowy u przedstawionych zwierząt stanowiło jedyną możliwość do potwierdzenia rozpoznania wady wrodzonej mózgowia. O ile wodogłowie może w niektórych sytuacjach być potwierdzone poprzez badanie ultrasonograficzne przeciemiążczkowe, w opisanych przypadkach było niemożliwe do przeprowadzenia ze względu na całkowite zarośnięcie tej struktury. Badanie MRI stanowi ważną technikę diagnostyczną w przypadku podejrzenia wady rozwojowej mózgowia u psów i kotów oraz często jest jedyną techniką umożliwiającą precyzyjną ocenę rokowania dla pacjenta, a także wyboru odpowiedniej techniki terapeutycznej.

#### Piśmiennictwo:

- [1] De Lahunta A., Glass E., 2009. Veterinary neuroanatomy and clinical neurology. 3rd edition. Philadelphia: Saunders.
- [2] ReKate H.L., 2009. A contemporary definition and classification of hydrocephalus. Semin. Pediatr Neurol, 16:1, 9–15.
- [3] Becker S.V., Selby L.A., 1980. Canine hydrocephalus. Comp. Cont. Educ. Pract. Vet., 11 (8), 647–52.
- [4] Lu D., Lamb C.R., Pfeiffer D.U., Targett M.P., 2003. Neurological signs and results of magnetic resonance imaging in 40 Cavalier King Charles spaniels with Chiari type 1-like malformations. Vet. Rec., 153, 260–263.
- [5] Rusbridge C., Knowler S.P., 2003. Hereditary aspects of occipital bone hypoplasia and syringomyelia (Chiari type I malformation) in Cavalier King Charles spaniels. Vet. Rec., 153, 107–112.
- [6] Summers B., Cummings J., deLahunta A., 1994. Malformations of the Central Nervous System. Veterinary Neuropathology. St. Louis, Mosby, 82–86.





## ZASTOSOWANIE ELEKTROENCEFALOGRAFII W MONITOROWANIU ZABURZEŃ ŚWIADOMOŚCI U PSÓW

### THE USE OF ELECTROENCEPHALOGRAPHY IN MONITORING OF CONSCIOUSNESS ABNORMALITIES OF DOGS

Marcin Wrzosek, Elżbieta Giza, Józef Nicpoń

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych i Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: marcin.wrzosek@up.wroc.pl

Ataki zaburzeń świadomości są opisywane u psów jako jeden z najczęstszych objawów chorób neurologicznych. Ich rozpoznanie wymaga szeregu badań: rezonansu magnetycznego (MRI) głowy, badania płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) i elektroencefalografii (EEG). To ostatnie umożliwia ocenę funkcji kory mózgowej i jest wykorzystywane do potwierdzenia obecności odmiernej aktywności podstawowej kory mózgowej oraz rejestracji przelotnych potencjałów wyodrębnionych.

**Cel pracy:** Wykorzystanie EEG w ocenie funkcji ośrodkowego układu nerwowego u psów z zaburzeniami świadomości różnego tła.

**Materiał i metody:** 32 pacjentów pracowni neurologicznej Katedry Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, których podzielono na 2 grupy: A – 12 psów zdrowych oraz gr. B – 20 psów z objawami zaburzeń świadomości. U wszystkich zwierząt przeprowadzono badanie kliniczne, neurologiczne, badanie dna oka, badanie moczu, morfologiczne i biochemiczne krwi oraz badanie serologiczne surowicy krwi. U psów z gr. B wykonano potyliczną punkcję PMR. U niektórych zwierząt wykonano badanie MRI. EEG rejestrowano aparatem Nikon-Kodhen. Zapis przeprowadzono w 8-kanalowym montażu jednobiegunowym (F3,F4,C3,C4,T3,T4,O1,O2,-Ref., EKG-Ref., Resp-Ref.) z elektrodą odniesienia (-Ref.) na nosie oraz standardowym montażu dwubiegunowym. EEG rejestrowano z powierzchni skóry głowy za pomocą elektrod igłowych stalowych podskórnych. Zapis EEG analizowano wzrokowo (aktywność tła, przelotne potencjały wyodrębnione, potencjały padaczkopodobne) i spektralne (q-EEG). Badano w sedacji medetomidyną 20 µg/kg i.m., zapis EEG trwał do momentu wybudzenia się zwierzęcia, nie mniej niż 25 minut.

**Wyniki i omówienie:** W gr. A – EEG wykazało uogólnioną czynność podstawową o charakterze wysokonapięciowym, o niskiej częstotliwości, w tym głównie aktywności theta oraz delta – co wynikało z zastosowania premedykacji. W okresie wybudzenia zapis zmienił się na niskonapięciowy o wysokiej częstotliwości, przy pełnym wybudzeniu pojawiły się fale  $\alpha$  i  $\beta$ . Wykryto też obecność niepatologicznych przelotnych potencjałów wyodrębnionych w postaci wrzecion snu, zespołów K, fal typu vertex nałożonych na wolną aktywność podstawową. W gr. A nie stwierdzono aktywności padaczkowej. W gr. B rozpoznano: zaburzenia kompulsywno-obsesyjne (n=3; jamnik, CKCS, cocker spaniel), zapalenie mózgu tła immunologicznego (4 yorkshire teriery, 1 owczarek szwajcarski), padaczkę miokloniczną w przebiegu choroby ciał Lafora (3 beagle), padaczkę idiopatyczną (n=9). U wszystkich psów z gr. B stwierdzono aktywność podstawową podobną jak w gr. A. U psów z zaburzeniami kompulsywno-obsesyjnymi nie stwierdzono obecności wyładowań padaczkopodobnych. U wszystkich psów z zapaleniem mózgu stwierdzono obecność przelotnych potencjałów wyodrębnionych z obecnością ogniskowej aktywności rytmu theta, POST oraz zespołów K, a także pojedyncze wyładowania padaczkopodobne w postaci iglic i zespołów wieloiglicowych. U psów z padaczką miokloniczną stwierdzono masywne wyładowania padaczkowe w postaci uogólnionych iglic oraz zespołów wieloiglic i fal ostrych. U 6 psów z padaczką idiopatyczną potwierdzono obecność wyładowań padaczkowych, u 3 nie wykryto wyładowań patologicznych. Wstępne wyniki badań nad zastosowaniem techniki EEG wskazują na wysoki procent wykrywalności wyładowań patologicznych w gr. zwierząt z zaburzeniami świadomości: 85% całości gr. B, 70% u pacjentów z padaczką.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bergamasco L., Accatino A., Jaggy A., 1999. Methodical approach to digital electroencephalography and its use in veterinary medicine. *Veterinaria*, 13, 7–22.
- [2] Croft P.G., 1988. Canine Epilepsy. *Vet. Rec.* 122, 10, 238–239.
- [3] Fisch B.J., 1999. *Fisch and Spehlmann's EEG primer. Basic principles of digital and analog EEG*. Amsterdam, Elsevier B.V., 126, 185–195, 199–206, 379.



## PODSTAWOWE ORAZ KONTRASTOWE BADANIE STAWÓW ŁOKCIOWYCH PSÓW W OBRAZOWANIU REZONANSEM MAGNETYCZNYM

### BASIC AND CONTRAST EXAMINATION OF ELBOW JOINT IN DOGS WITH USE OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING

Yauheni Zhalniarovich, Zbigniew Adamiak, Marta Jaskólska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chirurgii i Rentgenologii z Kliniką, ul. Oczapowskiego 13, Olsztyn, e-mail: eugeniusz.zolnierowicz@uwm.edu.pl

Schorzenia stawów łokciowych psów stanowią duży odsetek kulawizn u psów. Dlatego bardzo ważne jest prawidłowe zdiagnozowanie tego stawu. Powszechnie wykorzystywane badanie rentgenograficzne pozwala zdiagnozować zmiany układu kostnego. Badanie za pomocą rezonansu magnetycznego pozwala natomiast na diagnozowanie stanu powierzchni stawowych oraz okolicznych tkanek miękkich.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 6 psów, wykazujących kulawiznę przedniej kończyny. Przed wykonaniem badania rezonansem magnetycznym wszystkie psy miały wykonane zdjęcia rentgenowskie stawu łokciowego w trzech projekcjach (przyśrodkowo-bocznej z stawem łokciowym wyprostowanym, przyśrodkowo-bocznej z zgiętym stawem łokciowym, i przednio-tylnej). Podczas tego badania nie stwierdzono żadnych nieprawidłowości. Następnie było wykonywane badanie rezonansem magnetycznym stawów łokciowych. Do tego badania psy były poddawane sedacji, a potem znieczuleniu ogólnemu. Podczas trwania badania staw łokciowy był unieruchomiony. Dwóm psom podano dostawowo kontrast (Omniscan 0,5 mmol/ml), jednemu w rozcieńczeniu 1:200, a drugiemu 1:400. W protokole badania używano T1- i T2-zależne sekwencje w różnych projekcjach: strzałkowej, grzbietowej i poprzecznej.

**Wyniki:** Sekwencje T1-zależne są wskazane do anatomicznej oceny stawu łokciowego, natomiast sekwencje T2-zależne są bardzo pomocne w ocenie powierzchni stawowych. Projekcje w płaszczyźnie grzbietowej są bardzo przydatne przy ocenie osteochondrosis nadkłykcia przyśrodkowego oraz do oceny więzadła pobocznego bocznego. Mięsień dwugłowy oraz trójgłowy ramienia oraz ich ścięgna są dobrze widoczne w projekcji strzałkowej. Prostowniki przedramienia są najlepiej widoczne w projekcji poprzecznej. Kontrast podany dostawowo w rozcieńczeniu 1:200 oraz 1:400 pozwala na lepszą ocenę powierzchni stawowej stawu łokciowego. Rozcieńczenie kontrastu nie wpływa na stopień wzmocnienia obrazu.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Baeumlin Y., De Rycke L., Van Caelenberg A., Van Bree H., Gielen I., 2009. Magnetic resonance imaging of the canine elbow: an anatomic study. *Vet. Surg* 39, 566–573.
- [2] Schaefer S.L., Baumel C.A., Gerbig J.R., Forrest L.J., 2010. Direct magnetic resonance arthrography of the canine shoulder. *Vet Radiol Ultrasound* 51, 391–396.



## ULTRASONOGRAFIA SPLOTU BARKOWEGO PSÓW

### ULTRASONOGRAPHY OF THE BRACHIAL PLEXUS IN DOGS

Wojciech Atamaniuk, Izabela Janus, Aneta Starczewska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Pracownia Diagnostyki Obrazowej Katedry i Kliniki Chirurgii,  
pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: atamaniuk@o2.pl

Splot barkowy (*plexus brachialis*) psa utworzony jest przez gałęzie dobrzuszne nerwów rdzeniowych C6-Th2. Gałęzie wychodzące ze splotu unerwiają szereg struktur kończyny piersiowej oraz klatki piersiowej. Ultrasonografia splotu jest szeroko wykorzystywana w medycynie ludzkiej zarówno do przeprowadzania znieczuleń miejscowych, jak i do diagnostyki zmian struktur nerwowych górnej kończyny dzieci i dorosłych. W literaturze weterynaryjnej pojawia się coraz więcej doniesień o wykorzystaniu ultrasonografii do wymienionych celów.

**Cel pracy:** Przedstawienie struktur splotu barkowego w obrazie USG oraz określenie przydatności badania ultrasonograficznego w diagnozowaniu zmian nerwów kończyny piersiowej psa.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na dziewięciu nieżywych psach różnych ras i płci, których śmierć niezwiązana była z narządem ruchu, a także na dwóch psach żywych.

Wstępna faza badań została przeprowadzona na zwłokach psów i obejmowała preparację splotu barkowego i struktur otaczających. W drugiej części wykonano badanie USG kończyny piersiowej zwłok, a także przyżyciowo na dwóch psach. Podczas badania osobników żywych użyto techniki Dopplera. Trzecia faza pracy obejmowała badanie ultrasonograficzne zwłok i miała na celu dokładną lokalizację i próbę zidentyfikowania poszczególnych struktur splotu barkowego. Wykorzystany został barwnik wprowadzany pod kontrolą USG.

**Wyniki i omówienie:** Zobrazowano struktury splotu barkowego, część z nich zidentyfikowano. Ustalono także punkty orientacyjne pomocne przy ultrasonografii omawianych struktur.

Badanie ultrasonograficzne umożliwia zobrazowanie nerwów splotu barkowego oraz identyfikację części z nich. Ze względu na ograniczenia sprzętowe nie jest możliwa identyfikacja wszystkich struktur, a co za tym idzie, diagnostyka zmian. Jednakże przykłady z literatury pokazują, że użycie lepszego sprzętu oraz większe doświadczenie badającego mogą pozwolić na wykorzystanie tej metody w diagnostyce.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bagshaw H.S., Larenza M.P., Seiler G.S., 2009. A technique for ultrasound-guided paravertebral brachial plexus injections in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 50 (6), 649–654.
- [2] Guilherme S., Benigni L., 2008. Ultrasonographic anatomy of the brachial plexus and major nerves of the canine thoracic limb. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 49 (6), 577–583.



## WYSTĘPOWANIE WAD NARZĄDU WZROKU U CHARTÓW POLSKICH OCCURRENCE OF OCULAR ABNORMALITIES OF POLISH GREYHOUND

Ireneusz Balicki<sup>1</sup>, Małgorzata Goleman<sup>2</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt,  
<sup>2</sup>Katedra Hodowli Amatorskich i Zwierząt Dzikich,  
e-mail: balicki.ireneusz@gmail.com

Występowanie wrodzonych i nabytych wad narządu wzroku zostało opisane u większości ras psów. U chartów polskich występują zwyrodnienie siatkówki (PRA) i inne wady okulistyczne nie rozpoznane dokładnie pod względem klinicznym.

**Cel badań:** Określenie występowania wad narządu wzroku u chartów polskich i opisanie ich obrazu klinicznego.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono u 148 chartów polskich – na 67 samcach i 87 samicach, w wieku od 6 miesięcy do 12 lat. Wszystkie psy poddano badaniu okulistycznemu zgodnie z protokołem badania wrodzonych wad narządu wzroku opracowanym przez ECVO. Badanie okulistyczne wykonano przy użyciu lampy szczelinowej, oftalmoskopu bezpośredniego, pośredniego i oftalmoskopu PanOptik oraz tonometru. Fotografie dna oka wykonywano kamerą połączoną z komputerem mającym oprogramowanie umożliwiające bezpośrednią analizę badanych obszarów dna oka oraz katalogowanie wyników poszczególnych badań.

**Wyniki i omówienie:** Zwyrodnienie siatkówki rozpoznano u 8 psów, co stanowi 5,4% badanych zwierząt. Objawami PRA u chartów polskich były: ścieńczenie i zanik naczyń krwionośnych, zwiększony odbłask błony odblaskowej, zaburzenia pigmentacji siatkówki z obszarami depigmentacji błony ciemnej. Najwcześniej PRA rozpoznano u 1,5-letniego samca. U 14 psów (9,5%) obserwowano występowanie retinopatii siatkówki (8 jednostronnych retinopatii i 6 dwustronnych). Retinopatie siatkówki u chartów polskich objawiały się: występowaniem hiperpigmentacji otoczonej zwiększonym odbłaskiem błony odblaskowej, obszarami siatkówki o zwiększonym odbłasku, zaburzeniami pigmentacji dna oka oraz miejscowymi ścieńczeniami naczyń krwionośnych wzdłuż ich przebiegu. Odnotowano występowanie po jednym przypadku: wieloogniskowej dysplazji siatkówki i dodatkowych rzęs. Przetrwała błona źreniczną stwierdzono u 4 psów (2,7%), a zaćmę u 7 (4,7%), szczelinę tęczówki u 2 (1,4%). U 2 psów występowała keratopatia lipidowa.

Zwyrodnienie siatkówki u chartów polskich występuje wśród typowych objawów i może pojawiać się we wczesnym okresie życia psa. Psy tej rasy wymagają okresowych badań okulistycznych w kierunku wrodzonych wad narządu wzroku. Retinopatie siatkówki u chartów polskich wymagają dalszych badań.



## CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA CHOROÓB NABITYCH SERCA W POPULACJI BADANYCH PSÓW W LATACH 2001–2011 – BADANIE RETROSPEKTYWNE

### PREVALENCE OF ACQUIRED HEART DISEASE IN A POPULATION OF DOGS EXAMINED FROM 2001 TO 2011 – A RETROSPECTIVE ANALYSIS

Magdalena Garncarz<sup>1</sup>, Marta Jaworska-Parzeniecka<sup>1</sup>, Michał Jank<sup>2</sup>, Magdalena Łój<sup>2</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Ursynowska 159c, Warszawa 02-787 Warszawa, <sup>2</sup>Katedra Nauk Fizjologicznych, ul. Ursynowska 159, e-mail: magdalena\_garncarz@sggw.pl

Choroby serca u psów stanowią istotny problem szczególnie w medycynie geriatrycznej. Szacuje się, że 75% psów cierpi na przewlekłą degeneratywną chorobę zastawki dwudzielnej (tzw. endokardiozę). Druga co do częstotliwości występowania nabyta choroba serca u psów, kardiomiopatia rozstrzeniowa, występuje znacznie rzadziej.

**Cel pracy:** była analiza zgromadzonych danych w latach 2001–2011 na temat częstości występowania nabytych chorób serca u psów i porównanie tych danych z publikacjami światowymi.

**Materiał i metody:** Analizie poddano informacje z kart chorobowych psów badanych w latach 2001–2011 w Klinice Małych Zwierząt Katedry Nauk Klinicznych (obecnie Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej) Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Zbadano 1947 psów różnych ras, w wieku od 2 tygodni do 19 lat, obu płci (845 samic, 1102 samców). Oprócz pełnego badania klinicznego, u zwierząt z podejrzeniem choroby serca, wykonano przezklatkowe badania echokardiograficzne, badanie EKG, i/lub RTG klatki piersiowej. Analizowany były jedynie karty chorobowe z pierwszych wizyt.

**Wyniki i omówienie:** Stwierdzono 1083 przypadków chorych kardiologicznie psów, co stanowi 56% ogólnej liczby psów. Najliczniejsze przypadki nabytych chorób serca to przewlekła zwyrodnieniowa choroba zastawek przedsionkowo-komorowych: 491 psów miało zmiany zastawki dwudzielnej (45% chorych psów, 25% wszystkich badanych psów), 101 psów – zmiany zastawki dwudzielnej i trójdziałelnej (9% chorych psów, 5% wszystkich badanych psów) i 2 psy – zmiany zastawki trójdziałelnej (0,19% chorych psów, 0,10% wszystkich badanych psów). Kolejną w częstotliwości występowania chorobą była kardiomiopatia rozstrzeniowa stwierdzona u 148 psów (14% chorych psów, 8% wszystkich pierwszych wizyt), z czego 10 psów miało jedynie podejrzenie kardiomiopatii. Zanotowano 22 przypadki zmian o charakterze nowotworowym (2% chorych psów, 1% wszystkich pierwszych wizyt), 10 psów z podejrzeniem arytmogennej kardiomiopatii prawej komory 0,92% chorych psów, 0,51% wszystkich pierwszych wizyt), 2 przypadki młodzieńczej arytmii owczarków niemieckich (0,18% chorych psów, 0,1% pierwszych wizyt) oraz 2 przypadki podejrzenia zapalenia wsierdza (0,19% chorych psów, 0,10% pierwszych wizyt). Udokumentowano 18 przypadków wodosierdza (1,66% chorych psów, 0,92% pierwszych wizyt), 10 przypadków przerostu dośrodkowego lewej komory bez wyraźnej przyczyny (0,92% chorych psów, 0,51% pierwszych wizyt), oraz 9 przypadków wtórnej niewydolności mięśnia sercowego (0,83% chorych psów, 0,46% pierwszych wizyt). Wyniki są podobne do innych opublikowanych badań na świecie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kittleson M.D., Kienle R.D., 1998. Myxomatous Atrioventricular Valvular Degeneration & Primary Myocardial Disease Leading to Chronic Myocardial Failure in Small Animal Cardiovascular Medicine. Mosby, Inc., St. Louis, 297–346.
- [2] Egenvall A., Bonnett B.N., Haggstrom J., 2006. Heart disease as a cause of death in insured Swedish dogs younger than 10 years of age. J. Vet. Intern. Med., 20:4, 894–903.
- [3] O’Leary C.A., Mackay B.M., Taplin R.H., Atwell R.B., 2005. Auscultation and echocardiographic findings in Bull Terriers with and without polycystic kidney disease. Aust. Vet. J., 83, 5, 270–5.
- [4] Serfass P., Chetboul V., Samoedrano C.C., i wsp., 2006. Retrospective study of 942 Small-Sized Dogs: Prevalence of Left Apical Systolic Heart Murmur and Left-Sided Heart Failure, Critical Effects of Breed and Sex. J. Vet. Cardiol., 8:1, 11–18.

Praca została zrealizowana częściowo w ramach grantu badawczego NCN N N308 607538.





## WPŁYW AGLEPRISTONU *IN VITRO* NA WYBRANE SUBPOPULACJE LIMFOCYTÓW T (CD4+, CD8+) SYNTETYZUJĄCE INF- $\gamma$ I IL-4 U SUK W DIESTRUS

### *IN VITRO* EFFECT OF AGLEPRISTONE ON T LYMPHOCYTES (CD4+, CD8+) SUBSETS SYNTHESIZING INF- $\gamma$ AND IL-4 IN DIESTRUS IN THE BITCH

Piotr Jurka, Joanna Borkowska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką, ul. Nowoursynowska 166, 02-767 Warszawa, e-mail: piotr\_jurka@sggw.pl

Aglepriston jest jedynym zarejestrowanym blokerem receptora progesteronowego w medycynie weterynaryjnej do przerywania ciąży u suk. Jest to związek o budowie steroidopodobnej [1]. Stosowany jest również do wywoływania porodu, leczenia łagodnych guzów gruczołu sutkowego, pochwy oraz w zachowawczym leczeniu ropomacicza [2]. Pomimo tak szerokiego zastosowania nie zbadano jego wpływ na komórki odpornościowe suki.

**Cel pracy:** Zbadanie wpływu aglepristonu na wybrane limfocyty T suk *in vitro*.

**Materiał i metody:** Jednojądrzaste komórki izolowane były z krwi obwodowej 9 zdrowych suk w fazie porującej (2.–3. tydzień). Komórki inkubowane były przez 24 i 48 godzin w obecności różnych dawek aglepristonu (substancja czynna w formie proszku – 30, 300 i 3000 ng/ml DMSO) i DMSO (Sigma) jako grupą kontrolną. Po inkubacji komórki restymulowano jonomycyną (Sigma) w obecności PMA (Fragille) przez 4 godziny. Wpływ aglepristonu oceniano poprzez analizę subpopulacji limfocytów T CD4+ i CD8+ syntetyzujących IL-4 i INF- $\gamma$ . Ekspresję antygenów powierzchniowych wykrywano za pomocą znakowanych przeciwciał anti-CD4 i anti-CD8 (Abd Serotec). Synteza INF- $\gamma$  i IL-4 oznaczana była metodą barwienia wewnątrzkomórkowego przy użyciu fluorescencyjnie znakowanych przeciwciał (Abd Serotec). Wyniki odczytywano przy użyciu cytometru przepływowego (Becton Dickinson).

**Wyniki i omówienie:** Wyniki zostały wyrażone jak odsetek pozytywnych komórek w granicach obszaru bramkowania limfocytów. Odsetek limfocytów T (CD4+) po 24 h inkubacji w grupie kontrolnej wynosił  $49 \pm 14,23$ , a w grupach badanych z dawkami aglepristonu 30, 300 i 3000 ng/ml odpowiednio:  $48,99 \pm 19,96$ ;  $49,1 \pm 17,92$ ;  $50,57 \pm 18,13$ . Po 48 godzinach inkubacji w grupie kontrolnej  $47,84 \pm 18,78$  i  $48,39 \pm 17,07$ ;  $51,95 \pm 14,68$ ;  $52,38 \pm 13,46$  w grupach badanych. Analogicznie w przypadku limfocytów T (CD8+) było:  $20,66 \pm 9,39$ ;  $22,16 \pm 12,58$ ;  $22,47 \pm 11,99$ ;  $22,88 \pm 11,92$  po 24 godzinach inkubacji i  $13,39 \pm 7,99$ ;  $15,35 \pm 8,24$ ;  $15,30 \pm 7,68$ ;  $18,81 \pm 16,27$  po 48 h inkubacji. Podobne wyniki obserwowano w przypadku odsetka limfocytów CD4+ i CD8+ syntetyzujących INF- $\gamma$  oraz IL-4. Średnie w grupach kontrolnych i badanych charakteryzowały się wysokim odchyleniem standardowym. Analiza statystyczna nie wykazała istotnego wpływu aglepristonu na odsetek poszczególnych subpopulacji limfocytów T. Nie było również istotnych różnic w aktywności limfocytów CD4 i CD8 w syntezie IL-4 ani INF- $\gamma$ . Pomimo że analiza statystyczna nie wykazała istotnych różnic, u niektórych osobników obserwowano widoczne różnice pomiędzy grupą kontrolną a badaną. Tendencje te jednak były różne. U niektórych psów stwierdzono zwiększenie aktywności limfocytów T, a u niektórych jej spadek. Tendencje te dotyczyły także różnych subpopulacji komórek. W związku z różnicami osobniczymi analiza statystyczna nie wykazała istotnego wpływu leku na limfocyty T. Wyniki wykluczają z dużym prawdopodobieństwem aktywujący wpływ aglepristonu na badane subpopulacje limfocytów T (Th1, Th2, Tc1, Tc2) suki. Wykluczenie hamującego wpływu aglepristonu na limfocyty T wymaga dodatkowych badań z jednoczesną stymulacją komórek mitogenem.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Lennoz-Roland M., Villefontaine F., 2005. Practical use of aglepristone. Review of experts meeting. Nicea, 17–18.
- [2] Hoffman B., Schuler G., 2000. Receptor blockers – general aspects with respect to their use in domestic animal reproduction. Anim. Reprod. Science, 60, 295–312.



## WARTOŚĆ KLINICZNA WSPÓŁCZESNYCH METOD DIAGNOZOWANIA I OPERACJI DYSKOPATII KRĘGOSŁUPA U PSÓW

### THE CLINICAL VALUE OF MODERN METHODS OF DIAGNOSIS AND SURGERY OF THE SPINE DISC DISEASE IN DOGS

Zdzisław Kielbowicz<sup>1</sup>, Piotr Skrzypczak<sup>1</sup>, Marcin Wrzosek<sup>2</sup>, Maciej Kielbowicz<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, <sup>2</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: [zdzislaw.kielbowicz@up.wroc.pl](mailto:zdzislaw.kielbowicz@up.wroc.pl)

Dyskopatia to stan zwyrodnienia krążka międzykręgowego, powodujący przemieszczenie się materiału dyskowego do kanału kręgowego z uciskiem rdzenia kręgowego lub korzeni rdzeniowych [1]. Dotyczy ona wszystkich ras psów, a szczególnie ras chondrodystroficznych. Choroba i deficyty neurologiczne dyskopatii ukazują się zwykle po ukończeniu trzeciego roku życia lub rzadziej w okresie wcześniejszym.

**Cel pracy:** Ocena zastosowania nowoczesnej techniki obrazowania: mielografii lub rezonansu magnetycznego (MRI) w diagnozowaniu, kwalifikacji oraz wyborze metody operacyjnego postępowania w leczeniu dyskopatii u psów.

**Materiał i metody:** Do badań własnych wykorzystano 16 psów leczonych w Katedrze i Klinice Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Do diagnostyki wykorzystano badanie neurologiczne i radiografię przeglądową, a po wstępnej kwalifikacji psów z podejrzeniem dyskopatii: mielografię albo rezonans magnetyczny. Mielografię w odcinku szyjnym lub lędźwiowym kręgosłupa wykonywano, podając środek kontrastowy Iohexsol (240 mg jodu/ml) w ilości 0,3 ml/kg. Obrazowanie za pomocą rezonansu magnetycznego o mocy 0,25 Tesli przeprowadzano w znieczuleniu infuzyjnym propofolem. Operacyjne leczenie dyskopatii polegało na zastosowaniu metody żłobienia dobrzuszego (ventral slot), hemilaminektomii i laminectomii.

**Wyniki i omówienie:** U operowanych psów mielografia umożliwiła potwierdzenie lub wykluczenie zmiany rdzeniowej na podstawie wcześniejszego badania klinicznego, określenie zmian bezpośrednich i pośrednich w rdzeniu kręgowym oraz kwalifikację psów do zabiegu operacyjnego lub leczenia farmakologicznego. Ponadto mielografia pozwoliła określić, czy hemilaminektomia powinna być wykonana po prawej, czy lewej stronie kręgosłupa. Wykonane operacje neurochirurgiczne metodą ventral slot, hemilaminektomii i laminectomii były bardzo dobrymi metodami terapeutycznymi, usuwając ucisk rdzenia kręgowego przez zwyrodniałe dyski międzykręgowe i przywracając psom możliwość prawidłowego poruszania się.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Sharp N., Wheeler S., 2005. Small Animal Spinal Disorders. Diagnosis and Surgery. Second edition Elsevier Mosby.
- [2] Jaggy A., 2005. Atlas Und Lehrbuch der Kleintierneurologie. Schlüterche.



## OCENA WARTOŚCI PREDYKCYJNEJ TOPOIZOMERAZY-II $\alpha$ W CHŁONIAKACH U PSÓW

### EVALUATION OF THE PREDICTIVE VALUE OF TOPOISOMERASE-II $\alpha$ IN CANINE LYMPHOMA

Paweł Klimiuk<sup>1</sup>, Wojciech Łopuszyński<sup>1</sup>, Zbigniew Nozdryn-Płotnicki<sup>1</sup>, Adam Brzana<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Anatomii Patologicznej, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, pawel.klimiuk@o2.pl,

<sup>2</sup>Zakład Higieny Weterynaryjnej w Opolu

Chłoniaki należą do najczęściej diagnozowanych nowotworów układu krwiotwórczego u psów. Większość chorujących na chłoniaka zwierząt reaguje pozytywnie na leczenie z użyciem leków cytostatycznych, jednak odpowiedź na chemioterapię wykazuje duże indywidualne różnice. Poszukuje się więc czynników predykcyjnych, które ułatwiłyby indywidualny dobór schematu chemioterapii. Szczególne zainteresowanie budzi potencjalna wartość predykcyjna markerów biologicznych, których ekspresja wzrasta w przebiegu procesów nowotworowych. Topoizomeraza II $\alpha$  (TOP-2A) należy do rodziny enzymów biorących udział w procesach związanych z metabolizmem DNA, w tym z segregacją nowo zreplikowanych par chromosomów, kondensacją i formowaniem szkieletu chromosomów oraz modyfikacją superhelisy DNA. Najsilniejsza ekspresja TOP-2A obserwowana jest w fazie G<sub>2</sub>/M cyklu komórkowego. TOP-2A jest również celem molekularnym dla leków cytostatycznych z grupy jej inhibitorów. Należą do nich m.in. antracykliny (doksorubicyna, epirubicyna), często stosowane jako elementy wielolekowych schematów terapii chłoniaków u psów.

**Cel badań:** Określenie poziomu ekspresji TOP-2A w chłoniakach nieziarniczych u psów w kontekście wskazań i możliwości zastosowania w terapii skojarzonej leków z grupy antracyklin.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły wycinki węzłów chłonnych psów, u których na podstawie badań mikroskopowych stwierdzono chłoniaka nieziarnicznego. Ekspresję TOP-2A oznaczono metodą immunohistochemiczną z zastosowaniem zestawu LSAB<sup>+</sup> (Dako) przy użyciu monoklonalnego mysiego przeciwciała (klon Ki-S1, Dako) rozcieńczonego 1:100. Ocenę ekspresji przeprowadzono z zastosowaniem komputerowego systemu analizy obrazu mikroskopowego, określając procentowy udział komórek nowotworowych wykazujących reakcję dodatnią, w stosunku do 1000 komórek chłoniaka.

**Wyniki i omówienie:** We wszystkich badanych wycinkach węzłów chłonnych w jądrach komórek nowotworowych wykazano ekspresję TOP-2A, jednakże w poszczególnych przypadkach obserwowano znaczne zróżnicowanie odczynu zarówno pod względem liczby wybarwionych jąder komórkowych, jak i intensywności ich zabarwienia. Leczenie z udziałem antracyklin, jakkolwiek bardziej efektywne, obarczone jest dużym ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych, szczególnie związanych z ich silną kardiotoxycnością. Przyjmując, że komórki, w których stwierdza się wyższą ekspresję TOP-2A cechuje większa wrażliwość na antracykliny, bezzasadnym wydaje się stosowanie leków z tej grupy w przypadkach guzów o niskiej ekspresji enzymu. Jeden z podstawowych problemów w ocenie ekspresji TOP-2A stanowi jednak brak jednolitego punktu odniesienia, klasyfikującego wynik badania immunohistochemicznego jako dodatni lub ujemny. Tym niemniej, uzyskane wyniki wskazują, że immunohistochemiczna ocena ekspresji TOP-2A może pełnić funkcję wskaźnika predykcyjnego do leczenia z zastosowaniem antracyklin w chłoniakach nieziarniczych u psów i implikują potrzebę prowadzenia dalszych badań w tym kierunku.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Sosińska-Mielcarek K., Jassem J., 2005. Predykcyjna rola ekspresji topoizomerazy II $\alpha$  w chemioterapii raka piersi z udziałem antracyklin, *Jurnal of Oncology*, 55:3, 252–256.
- [2] Hajduk M., Olszewski W.P., Śmietana A., 2009. Evaluation of the predictive value of topoisomerase II $\alpha$  in patients with breast carcinoma, *Pol. J. Pathol.*, 3, 115–123.
- [3] Lori J.C., Stein T.J., Thamm D.H., 2010. Doxorubicin and cyclophosphamide for the treatment of canine lymphoma: a randomized, placebo-controlled study, *Vet. and Comparative Oncology*, 8, 3, 188–195.



## EFEKTY KLINICZNE DOUSTNEGO PODAWANIA BUDESONIDU NA OŚ PODWZGÓRZE- -PRZYSADKA-NADNERCZA (PPN) U PSÓW Z NIESWOISTYM ZAPALENIEM JELIT

### CLINICAL EFFECTS OF ORAL BUDESONIDE ON THE HYPOTHALAMIC-PITUITARY- -ADRENAL AXIS IN DOGS WITH INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

Anna Kołodziejska-Sawerska, Andrzej Rychlik

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Diagnostyki Klinicznej, Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, e-mail: a.kolodziejska4@wp.pl

Nieswoiste zapalenie jelit u psów (NZJ, IBD – Inflammatory Bowel Disease) to grupa przewlekłych enteropatii, charakteryzujących się długotrwałymi lub nawracającymi objawami ze strony przewodu pokarmowego o niewyjaśnionej przyczynie, powiązana ze zmianami histopatologicznymi na terenie błony śluzowej jelit cienkich oraz grubych w postaci nacieków komórkowych błony śluzowej jelita w okolicy blaszki właściwej. U psów z ciężkim natężeniem IBD najskuteczniejszą terapią są glikokortykosteroidy. Skutkiem ubocznym podawania tych leków są objawy jatrogennego hyperadrenokortykoizmu. Budesonid jest syntetycznym, niehalogenowym analogiem GK, metabolizowanym w postaci niewykazującej działania steroidowego lub wykazującej je w minimalnym stopniu [2].

**Cel badań:** Ocena wpływu doustnej postaci Budesonidu (preparat Entocort) na oś PPN w terapii IBD u psów.

**Materiał i metody:** Badania wykonano u 21 psów obu płci o wadze od 6 do 20 kg różnych ras, będących pacjentami Polikliniki Weterynaryjnej UWM. Zwierzęta zakwalifikowane do doświadczenia wykazywały objawy wskazujące na IBD – przewlekłą biegunkę z jelit cienkich i grubych oraz wymioty o różnicowanym natężeniu i częstotliwości. Psy z rozpoznaniem IBD zostały podzielone na 3 grupy, którym podawano Budesonid w dawce 1 mg/zwierzę/dzień; 1,5 mg/zwierzę/dzień lub 2 mg/zwierzę/dzień przez okres 30 dni. Badanie endoskopowe wraz z pobraniem wycinków błony śluzowej dwunastnicy, jelita czczego i okrężnicy wykonane zostało przed rozpoczęciem badania i po miesiącu podania leku. Biopsaty błony śluzowej jelit oceniane były histopatologicznie według zaleceń Sekcji Gastroenterologicznej WSAVA. W badaniach biochemicznych uwzględniono aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST), fosfatazy alkalicznej (ALKP), kortyzolu (CORT) oraz hormonu adrenokortykotropowego (eACTH). Od każdego pacjenta przed i po 30 dniach badania pobierano mocz w celu określenia właściwości fizycznych i chemicznych oraz składników osadu moczu. U każdego psa codziennie oceniano ilość pobranej wody, częstotliwość oddania moczu i apetyt zwierząt przed rozpoczęciem doświadczenia, w trakcie jego trwania oraz po jego zakończeniu.

**Wyniki i omówienie:** W badaniu własnym wykazano, że Budesonid podawany doustnie psom z IBD w istotny sposób obniża aktywności osi PPN. Psy z IBD wykazywały znacznie obniżone stężenie CORT oraz eACTH w surowicy po 30 dniach terapii, co wskazuje na bezpośrednie obniżenie aktywności przysadki przez Budesonid. Podobne wyniki dotyczące obniżenia stężenia CORT oraz eACTH uzyskano również w innych doniesieniach [1, 2]. W badaniu własnym zaobserwowano istotny statystycznie wzrost poziomu ALKP po 30 dniach leczenia. Wykazano również, że obniżenie aktywności osi PPN u psów koreluje z efektami ubocznymi (poliuria, polidypsja) podawania glikokortykosteroidów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Stroup S.T., Behrend E.N., Kempainen R.J., Smith-Carr S., 2006. Effects of oral administration of controlled-ileal-release budesonide and assessment of pituitary-adrenocortical axis suppression in clinically normal dogs. *Am. J. Vet. Res.* 67, 1173–1178.
- [2] Tumulty J.W., Broussard J.D., Steiner J.M., Peterson M.E., Williams D.A., 2004. Clinical effects of short-term oral budesonide on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in dogs with inflammatory bowel disease. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 40, 120–123.





## BADANIE ERG W OKULISTYCE KLINICZNEJ PSÓW I KOTÓW

### ERG EXAMINATION IN DOGS AND CATS CLINICAL OPHTHALMOLOGY

Marcin Lew<sup>1</sup>, Sylwia Lew<sup>2</sup>, Marek Jałyński<sup>1</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chirurgii i Rentgenologii z Kliniką, <sup>2</sup>Zakład Mikrobiologii, Wydział Biologii, ul. Oczapowskiego 14, 10-900 Olsztyn, e-mail: lew@uwm.edu.pl

Badanie elektrofizjologiczne wzroku, a w szczególności badanie elektroretinograficzne (ERG), umożliwia przeprowadzenie obiektywnej weryfikacji funkcjonalności siatkówki, bez świadomej współpracy ze strony pacjenta. Wyniki pomiarów przedstawione w formie graficznej i tabelarycznej stanowią namacalny argument w rozmowie z właścicielem badanego psa lub kota. Niezwykle pomocną jest możliwość przeprowadzenia badania w przypadkach pełnego ubytku przejerności układu optycznego oka.

**Cel pracy:** Przedstawienie praktycznych zastosowań badania ERG w przypadkach dysfunkcji wzroku u psów i kotów.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na psach i kotach zakwalifikowanych do ogólnokrajowego, autorskiego programu skriningowego w kierunku wczesnego wykrywania jaskry, finansowanego z projektu badawczego własnego w latach 2010–2013 nr N N308 188739. Wszystkich pacjentów poddano badaniom wg zunifikowanego protokołu ERG, opierając się na wskazówkach przyjętych przez Committee for a Harmonized ERG Protocol, w ramach ECVO [3], na podstawie standardów wprowadzonych przez ISCEV [2].

Pomiarów dokonywano z zastosowaniem 2-kanalowego aparatu EasyVEP (Acriver), wyposażonego w 12-bitowy konwerter analogowo-cyfrowy. Pomiar odpowiedzi komórek światłoczułych zaczynano w adaptacji skotopowej, z zastosowaniem światła białego o mocy –20 dB względem błysku standardowego o sile 3 cd/m<sup>2</sup>/sec i częstotliwości 0,3 Hz. Do wyniku uśredniano 8 odpowiedzi [1]. Odpowiedź tzw. mieszana wywoływana była przy błysku o sile 3 cd/m<sup>2</sup>/sec i częstotliwości 0,1 Hz. Po adaptacji fotopowej na poziomie 30 cd/m<sup>2</sup> nagrywano odpowiedź czopkową, przy sile sygnału rzędu 3 cd/m<sup>2</sup>/sec z częstotliwością 4,9 Hz. Selektywna odpowiedź pręcikowa typu flicker uzyskiwana była przy częstotliwości 31 Hz.

**Wyniki i omówienie:** Wyniki badań stanowiły wartości czasów latencji oraz amplitud poszczególnych załamków. Dla ERG w adaptacji fotopowej mierzono falę-a, falę-b oraz w niektórych przypadkach falę-i. W adaptacji skotopowej mierzono falę-a i falę-b w odniesieniu do tzw. adaptacji skotopowej wyrażanej wzrostem amplitudy fali-b. Pacjentów ze schorzeniami przedniego bieguna (w tym z zaćmą) cechowały prawidłowe czasy latencji z nieznacznie obniżonymi wartościami amplitud poszczególnych załamków. Pacjentów z jaskrą oraz innymi dysfunkcjami siatkówki cechowały znaczne różnice opisanych wskaźników. W odniesieniu do wczesnej diagnostyki wad wrodzonych siatkówki u psów badanie ERG umożliwia uzyskanie konkretnego rozpoznania znacznie wcześniej, niż klasyczne badanie oftalmoskopowe [4]. W diagnostyce jaskry stanowi cenny instrument monitorujący zakres zmian destrukcyjnych siatkówki. Badanie ERG przeprowadzane w kontekście kwalifikacji operacyjnej pacjentów z zaćmą umożliwia jednoznaczną i obiektywną ocenę funkcjonalności siatkówki w przypadkach pełnej nieprzezierności układu optycznego oka.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Maehara S., Itoh N., Itoh Y., Wakaiki S., Tsuzuki K., Sento T., Kushiro T., Yamashita K., Izumisawa Y., Kotani T., 2005. Electroretinography using contact lens electrode with built-in light source in dogs, *J. Vet. Med. Sci.*, 65, s. 509–514.
- [2] Marmor M.F., Holder G.E., Seeliger M.W., Yamamoto S., 2004. Standard for clinical electroretinography (2004 update), *Documenta Ophthalmologica*, 108, 107–114.
- [3] Narfstrom K., Ekesten B., Rosolen G.S., Spiess M.B., Percicot L.M., Ofri R.: Guidelines for clinical electroretinography in dogs, *Doc. Ophthalmol.*, 2002, 105, 83–92.
- [4] Ofri R., 2002. Clinical electroretinography in veterinary ophthalmology-the past, present and future, *Doc. Ophthalmol.*, 104, 5–16.





## HEMIVERTEBRAE – KRĘGI POŁOWICZE U PSÓW RASY BULLDOG FRANCUSKI

### CANINE HEMIVERTEBRAE – IN FRENCH BULLDOG BREED

Jacek Madany

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Zakład Chorób Wewnętrznych Zwierząt Towarzyszących, 20-612 Lublin, Głęboka 30

**Wstęp:** Hemivertebrae, zwane też kręgiem połowicznym, półkręgiem lub kręgiem klinowym to wrodzona wada rozwojowa kręgow o podłożu dziedzicznym. Występuje u buldogów francuskich, angielskich, mopsów, boston terierów i, dużo rzadziej, u psów innych ras. Mechanizm przekazywania wady nie jest znany, najprawdopodobniej dziedziczy się autosomalnie recesywnie. Problem ma znaczenie kliniczne i hodowlane.

Hemivertebrae doprowadzają do skrzywienia kręgosłupa, zgięcia kanału rdzeniowego i kompresji rdzenia. Występują objawy, m.in.: bolesności kręgosłupa, zaburzenia czucia dotyku, wzrost napięcia mięśni grzbietu i kończyn, porażenie kończyn, zaburzenia w oddawaniu moczu i kału. Wada może występować samodzielnie lub wraz z innymi wadami budowy kręgow: blok kręgow, rozczep kręgosłupa, kręgi przejściowe. Rozpoznanie stawiane jest na podstawie badania RTG i badania mielograficznego. Pomocne może być obrazowanie RM i CT. Leczenie jest zachowawcze lub chirurgiczne w zależności od stopnia zmian i ilości zmienionych kręgow.

**Cel badań:** Prezentacja wyników diagnostycznych i terapeutycznych uzyskanych u psów rasy buldog francuski, które manifestowały kliniczne objawy chorobowe związane z hemivertebrae. Celem jest też zasygnalizowanie lekarzom praktykom problemu tejże wady u psów ras predysponowanych, którą w klinice autora notuje się ze wzrastającą częstotliwością.

**Materiał i metody:** Badania wykonano u 4 psów rasy buldog francuski: 3 samic i 1 samca, w wieku od 1 roku do 2,5 lat, z klinicznymi objawami neurologicznymi: zmiany w ruchu i zachowaniu psów. Psy leczono i obserwowano w czasie od 7 miesięcy do 10 lat.

**Wyniki:** U psów stwierdzono nieprawidłowe postawy stojące, siedzące i w ruchu. Neurologiczne badanie wykazało bolesność kręgosłupa w odcinku piersiowym i różne nasilenie objawów ocenionych, jako średniego (pies nr 1 i 2) i ciężkiego stopnia (pies nr 3 i 4). Badania rtg ujawniły zmiany typu hemivertebrae u każdego psa. Dodatkowo, stwierdzono występowanie wad towarzyszących, skrzywienie kręgosłupa (pies nr 1 i 2), kręgi motyli (pies nr 1) i blok kręgow (pies nr 3). U wszystkich psów wprowadzono indywidualne leczenie farmakologiczne i fizjoterapeutyczne. W 3 przypadkach uzyskano dobre wyniki i psy odzyskały możliwość samodzielnego poruszania się. W 1 przypadku wynik był niezadowolający – pies mógł się poruszać jedynie z pomocą specjalnie skonstruowanego wózka, który podtrzymywał kończyny tylne.

Wyniki leczenia zachowawczego hemivertebrae z reguły są zmienne i trudne do przewidzenia. Leczenie chirurgiczne jest skomplikowane i kosztowne. Psy z podobnymi zmianami spotyka się jednak coraz częściej i stanowią one znaczny problem kliniczny i hodowlany. Kliniczny – gdyż objawy dotyczą psów młodych i znacznie upośledzają ich funkcjonowanie i samodzielność ruchową. A z punktu widzenia selekcyjnego i hodowlanego psy obciążone tą wadą nie powinny być rozmnażane.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Besalti O., Ozak A., Pekcan Z., Eminaga S., 2005. Nazca classification of hemivertebra in five dogs. *Irish Vet. Journal*, 58, 12, 688–690.
- [2] Brande P., Van den Dennis R., 1994. Congenital anomaly of the cervical vertebral column of a dog. *Vet. Rec.*, 135, 18, 436.
- [3] Braund K.G., 2003. *Clinical Neurology in Small Animals: Localization, Diagnosis and Treatment, Developmental Disorders*. Intern. Vet. Inf. Serv., Ithaca NY.
- [4] Frantar B., 1996. A case of hemivertebrae in the dog. *Veterinarske Novice*, 22, 11, 397–399.
- [5] Freitas S.H. de Doria, Mendonca R.G.S., Pires F. de S, Santos M.A.M, Camargo M.D. dos, 2007. Thoracic hemivertebrae in an English Bulldog with spinal neurologic syndrome – case report. *Rev. Brasil. Med. Vet.*, 29, 4, 171–173.
- [6] Jaggy A., 2010. Spinal Cord. Anomalies. [in:] *Small Animal Neurology*. Hannover 341–348.



## OCENA STATUSU IMMUNOLOGICZNEGO PSÓW Z NIEDOCZYNNOŚCIĄ TARCZYCY

### EVALUATION OF THE IMMUNOLOGICAL STATUS IN HYPOTHYROID DOGS

Julia Miller, Anna Chełmońska-Soyta

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, e-mail: julia.miller@up.wroc.pl

Niedoczynność tarczycy jest najczęstszym schorzeniem endokrynologicznym u psów. W 95% ma ono charakter pierwotny, tj. spowodowane jest dysfunkcją samego gruczołu. Zaburzenie funkcjonowania tarczycy może być związane m.in. z zapaleniem limfocytarnym lub z idiopatyczną, postępującą atrofią narządu. Według niektórych autorów [1] zmiany zanikowe tarczycy mogą obrazować późne stadium zapalenia limfocytarnego. Tym samym proces autoimmunologiczny uznaje się za najczęstszą przyczynę niedoczynności tarczycy, jednak dokładny patomechanizm nie jest znany. Bazując na analogicznej etiologicznie chorobie u ludzi (choroba Hashimoto), można przypuszczać, że podobnie jak u tego gatunku, również u psów możliwe jest określenie dysregulacji układu immunologicznego, związanych z występowaniem niedoczynności tarczycy [2].

**Cel pracy:** Oznaczenie wybranych – zarówno komórkowych, jak i humoralnych – parametrów oceny statusu immunologicznego zwierząt z tym schorzeniem.

**Materiał i metody:** Grupę doświadczalną stanowiło 9 suk i 4 psy w różnym wieku i różnych ras, u których na podstawie objawów klinicznych i badań hormonalnych zdiagnozowano niedoczynność tarczycy. Do grupy kontrolnej zaliczono 15 zwierząt klinicznie zdrowych, skierowanych na rutynowe badania lub zabiegi kastracji/sterylizacji. U wszystkich osobników oznaczono poziom krążących kompleksów immunologicznych w surowicy metodą z użyciem PEG. U 11 zwierząt grupy badanej i kontrolnej oznaczono subpopulacje limfocytów krwi obwodowej badaniem cytometrycznym. W tym celu wyizolowane z krwi pobranej na heparynę limfocyty barwiono w następujących zestawieniach: CD3 CD21 (limfocyty T/limfocyty B); CD3 CD8 (limfocyty T cytotoksyczne); CD3 CD4 CD25 i CD3 CD4 Foxp3 (limfocyty pobudzone, limfocyty T regulatorowe). Dodatkowo przeprowadzono 6-godzinną hodowlę krwi pełnej pobranej od 8 psów grupy badanej i 12 kontrolnej w stymulacji PMA i jonomycyną w celu cytometrycznego oznaczenia IFN $\gamma$  w limfocytach helperowych (CD4) i cytotoksycznych (CD8).

**Wyniki i omówienie:** Poziom krążących kompleksów immunologicznych (CIC) w grupie badanej wyniósł:  $0,254 \pm 0,125$ , a w grupie kontrolnej:  $0,135 \pm 0,04$ . Odsetek limfocytów T odpowiednio:  $85,1 \pm 8,57$  i  $79,8 \pm 10,18$ ; limfocytów B:  $13,75 \pm 8,11$  i  $18,29 \pm 9,52$ ; limfocytów Tc wśród limfocytów T  $31,56 \pm 11,1$  i  $25,48 \pm 6,73$ ; limfocytów Th wśród limfocytów T:  $52,44 \pm 12,84$  i  $62,58 \pm 8,18$ ; limfocytów CD4+CD25+ wśród limfocytów T:  $5,76 \pm 2,78$  i  $6,72 \pm 2,62$ ; CD4+Foxp3+ wśród limfocytów T:  $4,11 \pm 1,17$  i  $5,43 \pm 2,68$ ; limfocytów CD4+ IFN $\gamma$ +:  $6,61 \pm 2,38$  i  $6,0 \pm 2,46$ ; limfocytów CD8+IFN $\gamma$ +:  $8,84 \pm 5,75$  i  $4,28 \pm 1,92$ .

Zanotowano istotną statystycznie (test U Manna-Whitneya;  $p \leq 0,05$ ) różnicę w poziomie CIC w grupie badanej w porównaniu z grupą zwierząt zdrowych. Metoda ta, jako łatwy i szybki test diagnostyczny, może okazać się w przyszłości pomocna do oceny statusu immunologicznego zwierząt chorych. W grupie badanej wyższy był także w populacji limfocytów T odsetek limfocytów Tc, a dodatkowo, w wewnątrzkomórkowym barwieniu interferonu gamma wykazano wyższy odsetek komórek pozytywnych (test U Manna-Whitneya;  $p \leq 0,05$ ). Zapaleniu tarczycy u psów towarzyszy więc wzrost aktywności limfocytów Tc1 i wzrost poziomu IC. Nieznacznie większy okazał się u zwierząt chorych odsetek pobudzonych limfocytów Th (CD4+ CD25+), co może korelować z niższym odsetkiem limfocytów CD4+ Foxp3+, jednak duże różnice osobnicze i stosunkowo nieliczna grupa badanych psów nie pozwalają na jednoznaczną ocenę wielkości populacji limfocytów u tych zwierząt.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Day M.J., 2008. Clinical Immunology of the Dog and Cat, Manson Publishing
- [2] Lichiardopol C, Mota M., 2009. The Thyroid and Autoimmunity Rom. J. Intern. Med. ROM., 47, 3, 207–215.



## WYKORZYSTANIE KOMÓREK MACIERZYSTYCH W LECZENIU ZWYRODNIENIA STAWÓW BIODROWYCH U PSÓW

### THE USE OF STEM CELL FOR THE TREATMENT OF HIP OSTEOARTHRITIS IN DOGS

Jakub Nicpoń<sup>1</sup>, Przemysław Prządka<sup>1</sup>, Krzysztof Marycz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: nickub@poczta.onet.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Pracownia Mikroskopii Elektronowej

Komórki macierzyste (stem cell), tzw. komórki pnia, to komórki wykazujące zdolności proliferacji oraz zdolność do przekształcania się do innych typów komórek.

Istnieją dwa rodzaje komórek macierzystych:

- embrionalne (prenatalne) komórki macierzyste,
- dorosłe (postnatalne) komórki macierzyste.

Dorosłe tkanki ssaków są obecnie uznawane za rezerwuuar regeneracyjnych populacji komórek znanych jako dorosłe komórki macierzyste.

**Cel badań:** Omówienie zastosowania komórek macierzystych w terapii OA u psów przy użyciu komórek macierzystych tkanki tłuszczowej.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiła grupa 8 psów w wieku od 8 do 12 lat, wykazujących objawy osteoartrozy stawów biodrowych, będących pacjentami Katedry i Kliniki Chirurgii. Od każdego pacjenta została pobrana próbka tkanki tłuszczowej o masie 20–40 g z okolicy talerza biodrowego, następnie przekazana do laboratorium w celu oczyszczenia, izolacji i namnożenia komórek macierzystych (do poziomu 10 mln). Po okresie 2 tygodni autologiczne próby MSCs deponowane były do stawów biodrowych. Badanie kliniczne pacjentów następowało 30., 60. i 90. dnia po podaniu komórek. Oceniano: stopień kulawizny, ruchomość w stawach, bolesność przy omacywaniu. Dodatkowo 60. dnia było wykonywane zdjęcie RTG.

**Wyniki i omówienie:** Efekty naprawcze po sródstawowym podaniu MSCs były widoczne zarówno klinicznie, jak i radiologicznie u siedmiu z ośmiu psów.

Badanie wykazało znaczną poprawę ruchomości stawów, zmniejszenie objawów kulawizny zarówno w chodzie, jak i klusie, a także znaczne ograniczenie objawów bólowych. W obrazie RTG zaobserwowano niewielkie zwiększenie masy chrząstki oraz wyraźne ograniczenie stanu zapalnego. U jednego pacjenta nie nastąpiła żadna wyraźna poprawa.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Black L.L., Gaynor J., Gahring D., Adams C., Aron D., Harman S., Gingerich D.A., Harman R., 2007. Effect of adipose derived mesenchymal stem and regenerative cells on lameness in dogs with chronic osteoarthritis of the coxofemoral joints; a randomized, double blinded multicenter, controlled trial.
- [2] Caplan Al., Dennis J.E., 2006. Mesenchymal stem cells as trophic mediators.
- [3] Arinze T.L., Peter S.J., Archambault M.P., Van Den Bos C., Gordon S., Kraus K., Smith A., Kadiyala S., 2003. Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical – sized canine segmental defect.



## WPŁYW ZNIECZULENIA Z WYKORZYSTANIEM PROPOFOLU NA STAN CZYNNOŚCIOWY WĄTROBY U PSÓW

### THE INFLUENCE OF GENERAL ANAESTHESIA WITH PROPOFOL ON THE LIVER FUNCTION IN DOGS

Maciej Orzelski<sup>1</sup>, Małgorzata Słowik-Orzelska<sup>3</sup>, Aleksandra Sobczyńska-Rak<sup>1</sup>, Dorota Róžańska<sup>1</sup>,  
Andrzej Milczak<sup>2</sup>, Piotr Silmanowicz<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt,  
<sup>2</sup>Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin  
<sup>3</sup>SPZOZ MSW, ul. Grenadierów 3, 20-331 Lublin

Propofol wykorzystuje się w krótkotrwałych zabiegach jako monoanestetyk lub w połączeniu z premedykacją [1]. Jest uważany za środek z wyboru do stosowania przy biopsji wątroby oraz indukcji znieczulenia u pacjentów z chorobami wątroby. W czasie działania propofolu obserwuje się znaczny wpływ na krążenie wątrobowe, natomiast zmiany w funkcjonowaniu wątroby są minimalne [2].

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 14 psach, samcach różnych ras, w wieku od 3 do 8 lat. W badanej grupie wyodrębniono dwie podgrupy. Grupa 1: 7 psów, w której zwierzęta poddawano sterylizacji (K) i grupa 2: 7 psów, w której przeprowadzono znieczulenie bez zabiegu (NK). Premedykacja: ksylazyna – 2 mg/kg m.c., atropina – 0,05 mg/kg m.c., midazolam – 0,5 mg/kg m.c. w iniekcji domięśniowej. Po upływie 15 min rozpoczęto infuzję propofolu wg efektu działania w dawce do 6 mg/kg. Krew do badań pobierano przed znieczuleniem, 24 godz., 120 i 240 godz. po znieczuleniu. Wpływ znieczulenia na stan czynnościowy wątroby oznaczano na podstawie poziomu stężenia: aminotransferazy alaninowej (ALT), gamma-glutamylotranspeptydazy (GGT), bilirubiny całkowitej. Badanie układu krzepnięcia oceniano na podstawie: czasu protrombinowego (PT), czasu kaolinowo-kefalinowego (APTT) i poziomu stężenia fibrynogenu.

**Wyniki i omówienie:** Zmiany aktywności ALT mieściły się w granicach norm fizjologicznych; z poziomu 40,22 U/l przed znieczuleniem do 44,54 U/l w 24 godz. po znieczuleniu. Po 24 godzinach od znieczulenia najmniejszy i minimalny wzrost ALT dla podgrup N i NK występuje przy zastosowaniu propofolu. Z porównania wyników badań własnych aktywność enzymów ALT, GGT i stężenia bilirubiny całkowitej wynika, że najmniejszy negatywny wpływ na wątrobę ma znieczulenie z użyciem propofolu, dotyczy to zarówno podgrup K, jak i NK. Przydatną i czułą metodą monitorowania czynności wątroby jest badanie układu krzepnięcia. Upośledzenie funkcji hepatocytów prowadzi do zaburzenia biosyntezy białek, w tym także osoczowych czynników krzepnięcia. Okres półtrwania czynników krzepnięcia w osoczu jest krótki i wynosi kilka godzin lub jak w przypadku fibrynogenu 4–5 dni [3]. Umożliwia to wczesne obserwowanie zaburzeń syntezy tych białek. Jedną metodą oceny aktywności czynników krzepnięcia jest pomiar globalnych czasów krzepnięcia, tj. PT i APTT. O zaburzeniu syntezy białek świadczy także stężenie fibrynogenu w osoczu. Białko to zaliczane jest również do grupy białek „ostrej fazy zapalenia” i dlatego jego stężenie może ulegać różnym wahaniom w różnych stanach patologicznych. Wzrost stężenia fibrynogenu w 24 godz. jest związany z ingerencją chirurgiczną. Potwierdzeniem jest spadek wartości fibrynogenu po 120 i 240 godz. i powrót do wartości wyjściowej – wygasanie ostrej fazy. W podgrupie K znieczulanej propofolem spadek PT i wzrost ilości trombocytów po 120 godz. może być wywołany gojeniem się ran i pobudzeniem procesów wykrzepiania bardziej niż negatywnym wpływem środka na wątrobę.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Paddleford R.R., 1999. Znieczulenie ogólne u małych zwierząt. Elsevier Science.
- [2] Ilkiw J.E., Injectable Anesthesia in Dogs – Part 2: Comparative Pharmacology. Recent Advances in Veterinary Anesthesia and Analgesia: Companion Animals 18.07.2002.
- [3] Hitzig W.H., 1993. Białka osocza. Patofizjologia i klinika. PZWL, Warszawa.





## LECZENIE ROZLEGŁYCH UBYTKÓW BŁONY ŚLIZOWEJ JAMY USTNEJ PSÓW Z ZASTOSOWANIEM BIOMATERIAŁU *ACELLVET*

### BIOSCAFFOLD AS A TREATMENT MODALITY USED IN DOGS WITH DEFECTS OF ORAL MUCOUS MEMBRANE

Grzegorz Sapikowski<sup>1</sup>, Janusz Bieżyński<sup>2</sup>, Jarosław Popiel<sup>1</sup>, Józef Nicpoń<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów, <sup>2</sup>Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: grzegorz.sapikowski@up.wroc.pl

W stomatologii weterynaryjnej psów diagnozowane są odporne na leczenie nadżerki i owrzodzenia błony śluzowej [1]. W przypadkach nie poddanych leczeniu proces może prowadzić do uszkodzania kolejnych struktur tkankowych i formowania się przetok ustno-nosowych (2,3). W zaawansowanych procesach chorobowych ubytek tkanek może być tak duży, że nie będzie możliwe wykorzystanie w leczeniu technik chirurgicznych i wówczas rokowanie dla zwierzęcia jest niepomyślne. Celem badań było zastosowanie i ocena przydatności biomateriału *AcCellVet* w leczeniu ubytków tkanek miękkich jamy ustnej u psów.

**Materiał i metody:** W Klinicznej Pracowni Stomatologicznej leczony był pies, suka, rasy terier szkocki, o umaszczeniu czarnym, w wieku 4 lat, o masie ciała 10 kilogramów z objawami dwóch symetrycznych owrzodzeń błony śluzowej zlokalizowanych na podniebieniu twardym w okolicy czwartych zębów przedtrzonowych (108, 208) i pierwszych zębów trzonowych szczęki (109, 209) z obecnością martwiczych tkanek i ropy oraz z marginalnym naciekiem zapalnym i obrzękiem. Dominującym objawem klinicznym była znaczna trudność w przyjmowaniu pokarmu, ślinienie i bardzo intensywny nieprzyjemny zapach z jamy ustnej psa. W badaniu klinicznym pacjenta stwierdzono znaczne powiększenie węzłów chłonnych żuchwowych i nasiloną bolesność okolicy twarzoczaszki. Obraz kliniczny wskazywał na proces chorobowy wywołany urazem ciała obcego. U psa zastosowano terapię objawową, która nie doprowadziła do wygojenia zmian chorobowych. Wykonano następnie badania przeglądowe i immunodiagnostyczne krwi, badanie rentgenowskie szczęki, pobrano wymaz mikrobiologiczny i wycinki tkankowe, a w postępowaniu stomatologicznym usunięto zęby zlokalizowane w obszarze ubytków tkanek (107, 108, 109, 110, 207, 208, 209, 210). W następnym etapie leczenia wszczepiono biomateriał *AcCellVet* w celu zamknięcia ubytków tkanek jamy ustnej i odbudowania struktur tkankowych podniebienia.

**Wyniki i omówienie:** Wdrożony w pierwszym etapie schemat leczenia psa przyniósł zdecydowaną poprawę stanu klinicznego zwierzęcia, jednak nie doszło do wygojenia się zmian patologicznych na podniebieniu. Wykonane badanie dodatkowe wykluczyły podłoże onkologiczne choroby, a badania immunodiagnostyczne wykazały tło immunologiczne procesu chorobowego. Wdrożone wieloetapowe postępowanie chirurgiczne było nieefektywne. Zastosowany eksperymentalnie biomateriał *AcCellVet*, chirurgicznie zespolony stycznie z brzegiem zdrowych tkanek wokół ubytku, doprowadził odbudowy struktur tkankowych i całkowitego wygojenia ognisk chorobowych. Obecnie pies jest poddawany codziennym zabiegom profilaktycznym i podlega okresowym kontrolom stomatologicznym ponieważ objawy nasilonej odpowiedzi zapalnej o podłożu immunologicznym pojawiają się w innych obszarach tkanek błony śluzowej jamy ustnej.

**Wnioski:** 1. Trudnoleczące się zmiany chorobowe w jamie ustnej u psów, przebiegające z uszkodzeniem i ubytkiem tkanek mogą mieć podłoże autoimmunologiczne. 2. Badania eksperymentalne wykazały możliwość efektywnego wykorzystania biomateriału *AcCellVet* w stomatologii weterynaryjnej psów. 3. Zastosowanie biomateriału *AcCellVet* w leczeniu ubytków błony śluzowej jamy ustnej psów umożliwia odbudowę tkanek i wygojenie ran.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cywińska A., Jodkowska K., Gawliński J., 2007. Palatal defects in dogs and cats. *Veterinary Life* 12, 1015–1020.
- [2] Hennet P., 2001. Oronasal fistula and palatal repair. *Proceedings of 26<sup>th</sup> World Congress of The World Small Animal Veterinary Association*. Vancouver.
- [3] Smith M. M., 2000. Oronasal fistula repair. *Clin. Tech. Anim. Pract.* 15, 243–250.





## ENDOKRYNNA ROLA ŁOŻYSKA KOTKI

## ENDOCRINE ROLE OF THE PLACENTA IN THE DOMESTIC CAT

Marta J. Siemieniuch<sup>1</sup>, Ewelina Jursza<sup>1</sup>, Anna Z. Szóstek<sup>1</sup>, Alois Boos<sup>2</sup>, Dariusz J. Skarżyński<sup>1</sup>,  
Mariusz P. Kowalewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Polska Akademia Nauk w Olsztynie, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Oddział Biologii Rozrodu, Zakład Immunologii i Patologii Rozrodu,

<sup>2</sup>Institute of Veterinary Anatomy Vetsuisse-Faculty University of Zurich, Switzerland,  
e-mail: m.siemieniuch@pan.olsztyn.pl

Progesteron ( $P_4$ ) uważany jest za hormon niezbędny do utrzymania ciąży. Głównym źródłem  $P_4$  u ciężarnych kotek jest ciało żółte (CL), jednak owarietomie wykonywane po 45. dniu ciąży tylko u części kotek prowadziły do ronień. Z tego względu łożysko kotki, w przeciwieństwie do łożyska suki, było traktowane jako potencjalne dodatkowe miejsce syntezy  $P_4$ . Stwierdzono również, że w homogenatach łożyska zachodzi konwersja pregnenolonu do  $P_4$ . Ponieważ mechanizmy molekularne biorące udział w procesie steroidogenezy nie zostały dotychczas zbadane, celem podjętych badań było: pokazanie, że łożysko kotki posiada narzędzia do syntezy  $P_4$  oraz określenie ilości  $P_4$  w łożyskach pochodzących z różnych tygodni ciąży.

**Materiał i metody:** Materiał do badań pochodził od 18 ciężarnych kotek domowych, w wieku od 8 miesięcy do 9 lat. Od każdej kotki pobierano krew w celu oznaczenia stężenia  $P_4$ . Losowo wybrane łożysko podzielono na trzy części: i) jeden fragment utrwalono w RNA<sub>later</sub> w celu zbadania ekspresji genów dla białka regulującego steroidogenezę (StAR) i dehydrogenazy  $3\beta$ -hydroksysteroidowej ( $3\beta$ -HSD) metodą Real Time PCR. Zaprojektowane sekwencje nukleotydowe dla StAR i  $3\beta$ -HSD sklonowano i zdeponowano w Banku Genów; ii) kolejny fragment utrwalono w 4% roztworze wodnym formaldehydu w celu zbadania ekspresji białka dla StAR i  $3\beta$ -HSD metodą immunohistochemiczną; iii) trzeci fragment wykorzystano do ekstrakcji  $P_4$  metodą eterową. Zawartość  $P_4$  w osoczu oraz w homogenatach z łożyska zmierzono metodą immunoenzymatyczną (EIA).

**Wyniki i omówienie:** Ekspresja mRNA dla  $3\beta$ -HSD zwiększała się wraz z tygodniem ciąży. Natomiast ekspresja mRNA dla StAR była niezależna od fazy ciąży. Ekspresja białka dla obu badanych czynników była wyraźna w łożyskach pochodzących z drugiej połowy ciąży. Koncentracja łożyskowego  $P_4$  była niska w pierwszych tygodniach ciąży, zwiększała się wraz z rozwojem ciąży, osiągając maksimum około 7. tygodnia ciąży (10–11 ng/mL), ulegając wyraźnemu obniżeniu w ostatnim tygodniu ciąży. Profil  $P_4$  w osoczu był podobny do zmierzonego w homogenatach tkankowych. Wyniki badań wskazują, że łożysko kotki zawiera mechanizmy molekularne niezbędne do syntezy  $P_4$  oraz potwierdzające aktywność funkcjonalną tych mechanizmów. Pozwalają one również na postawienie hipotezy, że łożyskowy  $P_4$  bierze udział w utrzymaniu ciąży jako dodatkowe źródło tego hormonu.

Badania finansowane z projektów MNiSW Iuventus Plus IP2010 037570 & IP2011 048971.

## PRZYPADKI WŁASNE OPONIAKÓW (*MENINGIOMA*) MÓZGU U ZWIERZĄT

### THE MY CASES OF ANIMALS BRAIN MENINGIOMA

Zenon Sołtysiak

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Parazytologii, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: zenon.soltysiak@up.wroc.pl

Oponiaki (*meningioma*) są mezodermalnymi, pospolitymi guzami ośrodkowego układu nerwowego (OUN) zwierząt. Najwięcej oponiaków u psów opisano w wieku powyżej 14 lat, a u kotów w wieku ponad 9 lat. Makroskopowo nowotwory te u psów są odosobnione, różnych rozmiarów. Oponiaki mogą być inwazyjne, a czasami stwierdza się nadmierne kostnienie (*hyperostosis*) powyżej leżących kości.

**Cel badań:** Przedstawienie różnych form oponiaków stwierdzonych w trakcie sekcji mózgowia zwierząt.

**Materiał i metody:** Wycinki guzów pobrano od psów, kotów i świni, utrwalono w 8% formalinie. Preparaty histopatologiczne barwiono hematoksyliną Delafelda i eozyną (H-E).

**Wyniki badań:** Zawarto w tabeli 1.

Tabela 1

Gatunek zwierzęcia	Nazwa nowotworu	Lokalizacja	Obraz makroskopowy	Obraz histologiczny
Kot europejski, wiek 17 lat	Oponiak włóknotwórczy ( <i>meningioma fibroblasticum</i> )	Guz był przytwierdzony do sierpu mózgu	Guz wielkości ziarna grochu, barwy szarozółtej, uciskał płat czołowy prawy	Guz zawierał wyłącznie splecione pęczki włókien utworzonych z wysmukłych fibroblastów
Warchlak, wiek 3 miesiące	Oponiak transformujący ( <i>meningioma transitorioale</i> )	Nieregularny guz wielkości orzecha laskowego, połączony z oponą twardą, naciekający korę mózdzku i okolice komory IV	Guz nieregularny, na przekroju budowy niejednolitej	Guz zawierał mieszane pola komórek endotelialnych i włóknokowych. Transformująca postać zawierała domieszkę oponiaka syncytialnego i fibroblastycznego
Pies, mieszaniec, suka, wiek 9 lat	Oponiak wydzielniczy, pseudopiaszczakowaty ( <i>meningioma secretans</i> ) syn. pseudopsammomatous	Guz zlokalizowany w tylnym dole czaszkowym	Guz o wymiarach 1,1×0,8cm, barwy szaroróżowej	W obrazie histopatologicznym zdiagnozowano oponiaka wydzielniczego, pseudopiaszczakowatego z typowymi ciałami piaszczakowatymi.
Pies, owczarek niemiecki, wiek 9 lat	Oponiak metaplastyczny ( <i>meningioma metaplasticum</i> )	Guz zlokalizowany w tylnym dole czaszkowym	Guz rozległy, barwy szarobiałej	W badaniu histopatologicznym rozpoznano oponiaka metaplastycznego z tendencją do metaplastacji chrzęstnej
Pies, mieszaniec, wiek 12 lat	Oponiak naczyńiakowaty ( <i>meningioma angiomatousum</i> )	Guz zlokalizowany w tylnym dole czaszkowym	Guz o wymiarach 1,71,2 cm, szarobiały	Obecność kanałów naczyńiowych o różnej szerokości. Ściany naczyńiowe grube, zeszkliwiałe
Pies, mieszaniec, wiek 14 lat	Oponiak drobnotorbielowy ( <i>meningioma microcysticum</i> )	Guz zlokalizowany podoponowo w okolicy kory czołowo-skroniowej	Guz o średnicy 2,1×1,7 cm, bładoróżowy na rozkroju konsystencji miękkiej.	Liczne mikrotorbiele zawierające błady, kwasochłonny płyn. Torbiele otoczone wypustkami komórek nowotworowych
Pies, jamnik, wiek 12 lat	Obłoniak ( <i>haemangiopericytoma</i> )	Guz usytuowany podnamiotowo wraść do przestrzeni podpajęczynówkowej do piramid i ciała trapezowatego	Guz nieregularny, białoszary	Nowotwór wywodzący się z pericytów, zbudowany z licznych kanałów naczyńiowych o różnej szerokości, pomiędzy którymi znajdowały się gęsto ułożone komórki kształtu okrągłego, owalnego lub wrzecionowatego

#### Piśmiennictwo:

- [1] Sołtysiak Z., Michalska Z., Nowak M., 2002. Charakterystyka morfologiczna nowotworów mózgu u psów. *Medycyna Wet.* 58, 674–679.
- [2] McGrath J.T., 1962. Meningiomas in animals. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 21, 327–328.
- [3] McGavin M.D., Carlton W.W., Zachary J.F., 2001. *Thomson's Special Veterinary Pathology*, Mosby A Harcourt Health Sciences Company, St. Louis.
- [4] Mc. Donald Mc Gavin., Zachary J.F., 2007. *Pathologic basis of Veterinary disease*, 4<sup>th</sup> edition, Mosby Elsevier.



## PRZYPADEK DIROFILARIOZY PSA W WOJEWÓDZTWIE POMORSKIM

### CASE OF DIROFILARIASIS IN DOG IN POMERANIAN PROVINCE

Agnieszka Świątalska<sup>1</sup>, Aleksander W. Demiaszkiewicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk

<sup>2</sup>Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego Polska Akademia Nauk, Warszawa

e-mail: a.swiatalska@gdansk.wiw.gov.pl

Dirofilarioza jest chorobą ludzi i zwierząt wywoływaną przez dwa gatunki pasożytów: *Dirofilaria immitis* powodująca dirofilariozę sercowo-płucną oraz *Dirofilaria repens* – dirofilariozę tkanki podskórnej. W Polsce zostały już opisane pierwsze przypadki dirofilariozy podskórnej. W ciągu kilku lat pojawiło się kilka doniesień dotyczących przypadków tej postaci dirofilariozy zarówno u zwierząt, jak i u ludzi. Do chwili obecnej nie został udokumentowany przypadek stwierdzenia *Dirofilarii immitis* w Polsce.

**Cel pracy:** Przedstawienie pierwszego udokumentowanego przypadku dirofilariozy sercowo-płucnej u psa na terenie trójmiasta.

**Materiał i metody:** Pies rasy owczarek niemiecki, suka, w wieku 8 lat trafił do gabinetu weterynaryjnego w marcu 2012 r. z powodu osłabienia kondycji i apatii. Podczas wywiadu ustalono, że pies nigdy nie opuścił miejsca zamieszkania w Gdyni. Krew pobrano z żyły odpromieniowej do próbek z antykoagulantem. Wykonano badanie przez sporządzenie rozmazu barwionego metodą Giemzy oraz test SNAP 4DX firmy IDEXX. Badanie rozmazu dało wynik ujemny, natomiast test SNAP 4DX dał wynik pozytywny w kierunku wykrycia antygenów (Ag) *Dirofilaria immitis*. Test powtórzono czterokrotnie, za każdym razem uzyskując wynik dodatni świadczący o obecności antygenów uwalnianych z układu rozrodczego dojrzałych samic pasożyta. W celu potwierdzenia obecności mikrofilarii wykonano badanie mikroskopowe z wykorzystaniem testu Knotta. W trakcie oglądania preparatów zaobserwowano charakterystyczne mikrofilarie *D. immitis*. Wykonano także badanie morfologiczne krwi, w którym nie zaobserwowano istotnych zmian.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie danych uzyskanych z wywiadu można uznać przedstawiony przypadek za infekcję rodzimą *Dirofilaria immitis*. Dotychczas występowanie dirofilariozy odnotowywano głównie w strefach tropikalnej i subtropikalnej. Na terenie Europy udokumentowane przypadki pochodzą głównie z państw Basenu Morza Śródziemnego: Włochy, Francja, Hiszpania, Grecja, Turcja, Portugalia. W ostatnich latach coraz częściej diagnozuje się dirofilariozę na terenach Niemiec, Szwajcarii, Austrii, północnej Francji, Holandii, Wielkiej Brytanii, Słowacji, Czech oraz Szwecji. Zwiększanie zasięgu terytorialnego tej choroby jest wynikiem częstszego podróżowania z zwierzętami towarzyszącymi do krajów jej stałego występowania i/lub następstwem postępującego ocieplenia klimatu. Konsekwencją obu czynników jest powstanie sprzyjających warunków do występowania rodzimych infekcji dirofilariozy stanowiących poważne zagrożenie zarówno dla zdrowia ludzi, jak i zwierząt. Stąd istotnym jest uwzględnianie tej jednostki chorobowej w codziennej praktyce weterynaryjnej. Na uwagę zasługuje fakt, że na polskim rynku dostępne są szybkie i proste w wykonaniu testy serologiczne w kierunku Ag *Dirofilaria immitis*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Niziołek R., Rutkowska K., 2009. Dirofilarioza u psów i kotów. *Życie Wet.*, 798–804.
- [2] Zygner W., 2006. Choroby pasożytnicze przenoszone przez stawonogi zagrażające psom wyjeżdżającym do europejskich krajów Basenu Morza Śródziemnego i Portugalii. Część I, Filariozy i leiszmanioza, *Życie Wet.*, 530–535.
- [3] Demiaszkiewicz A., Polańczyk G., Pyziel A., Kuligowska I., Lachowicz J., 2009. Pierwsze ogniska dirofilariozy psów wywołanej przez *Dirofilaria repens* Railliet et Henry, 1911 w centralnej Polsce. *Wiadomości Parazytologiczne*, 367–370.
- [4] Demiaszkiewicz A., Polańczyk G., 2010. Pierwszy w Polsce przypadek inwazji *Dirofilaria repens* u psa. *Mag. Wet.*, 254–256.
- [5] Demiaszkiewicz A., Radulska M., Pyziel A.M., 2012. Przypadek dirofilariozy powiekowej w Polsce. *Mag. Wet.* 342–344.



## KLINICZNA OCENA ŚWIĄDU I ZMIAN SKÓRNYCH U PSÓW Z ATOPOWYM ZAPALENIEM SKÓRY (AZS)

### CLINICAL ASSESSMENT OF PRURITUS AND SKIN LESIONS IN DOGS WITH ATOPIC DERMATITIS (AD)

Iwona Taszkun

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Diagnostyki Klinicznej i Dermatologii Weterynaryjnej, e-mail: iwona.taszkun@up.lublin.pl

Atopowe zapalenie skóry psów (AZS, canine atopic dermatitis, CAD, AD) jest rumieniowo-świądową chorobą skóry o nawrotowym, przewlekłym przebiegu charakteryzującą się świądem i typowym umiejscowieniem zmian klinicznych. Jest to choroba uwarunkowana genetyczną predyspozycją do rozwoju IgE-zależnej nadwrażliwości na alergeny środowiskowe z grupy roztoczy kurzu domowego, pyłków traw, drzew, chwastów, grzybów, pleśni oraz alergenów naskórkowych. Choruje na nią około 10–30% populacji psów.

**Cel badań:** Ocena świądu i zmian skórnych u psów chorujących na AZS w dniu pierwszej wizyty i podczas leczenia z zastosowaniem testów PST (Pruritus Score Test) i CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extend and Severity Index) w modyfikacji własnej.

**Materiał i metody:** Badania prowadzono u 120 psów różnych ras w wieku 1–6 lat chorujących na AZS i będących pacjentami Gabinetu Dermatologicznego Klinik Weterynaryjnych UP w Lublinie. Oceny klinicznej dokonywano w 15 predylekcyjnych okolic ciała [2]. W teście PST oceniano częstotliwość i intensywność świądu, a w CADESI – rumień, wykwity pierwotne i wtórne oraz zliszajowacenie skóry. W obu testach zastosowano 5-punktową skalę ocen.

**Wyniki i omówienie:** W dniu pierwszej wizyty psy z AZS w teście PST uzyskały 34,25% punktów, przy czym w ocenie częstotliwości świądu – 42, 52% punktów, a intensywności – 25,25%. Świąd oceniany na „4” punkty, tj. uporczywy i ciągły, występował rzadko i stanowił nie więcej niż 6% wszystkich ocen. Najczęściej (68,24% przypadków) był on oceniany na „2” punkty, tzn. że pies drapie się kilka razy dziennie przez okres powyżej 30 sek., ale nie w czasie zabaw, posiłków czy nocą. W teście CADESI psy z AZS uzyskały 38,21% punktów, z czego najwięcej, bo 49% punktów stanowiły oceny rumienia skóry, natomiast wykwity pierwotne stanowiły 21%, wykwity wtórne – 29%, a objawy zliszajowacenia skóry – 32%. Likwidacja dermatoz wikłających redukuje objawy kliniczne choroby w 20–26%. Leczenie stanu ostrego AZS z zastosowaniem prednizonu (0,5 mg/kg m.c./dzień) lub cyklosporyny (5 mg/kg m.c./dzień) przez 4 tygodnie powoduje redukcję świądu i zmian skórnych o 65–82%, co wskazuje, że skuteczność kliniczna obu leków w redukcji świądu i zmian skórnych u psów jest porównywalna. Uzyskane wyniki są zbliżone do wyników innych autorów [1, 3, 4, 5].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Burton G., Burrows A., Walker R., Robson D., Basset R., Bryden S., Hill S., 2004. Efficacy of cyclosporine in the treatment of atopic dermatitis in dogs- combined results from two veterinary dermatology referral centers. *Austr. Vet. J.*, 82, 11, 681–685.
- [2] Favrot C., Linek M., Mueller R., Zini E. for the International Task Force on canine Atopic Dermatitis, 2010. Development of a questionnaire to assess the impact of atopic dermatitis on health-related quality of life of affected dogs and their owners. *Vet. Dermatology*, 21, 64–70.
- [3] Germain P.A., Prelaud P., Besignor E., 2005. CADESI (Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index) reproducibility. *Revue Med. Vet.*, 156,7, 382–385.
- [4] Olivry T., Mueller R., Nutta T., Favrot C., Prelaud P. for the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis (2008) Determination of CADESI-03 thresholds for increasing severity levels of canine atopic dermatitis. *Vet. Dermatology*, 19, 115–119.
- [5] Steffan J., Horn J., Gruet P., Strehlau G., Fondati A., Ferrer L., Noli C., 2004. Remission of the clinical signs of atopic dermatitis in dogs after cessation of treatment with cyclosporin A or methylprednisolone. *The Vet. Record*, 154, 681–684.





## OSTEOPATIA CZASZKOWO-ŻUCHWOWA (CMO) – DIAGNOSTYKA I LECZENIE CRANIO-MANDIBULAR OSTEOPATHY (CMO) – DIAGNOSIS AND TREATMENT

Michał Wąsowicz<sup>1</sup>, Krzysztof Czyż<sup>3</sup>, Karolina Czyż<sup>3</sup>, Karolina Barszcz<sup>1</sup>, Katarzyna Jodkowska<sup>2</sup>  
Maciej Cićkiewicz<sup>4</sup>, Marta Kupczyńska<sup>1</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Nauk Morfologicznych, 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159, <sup>2</sup>Katedra Nauk Klinicznych, 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159

<sup>3</sup>Gabinet weterynaryjny VETMEDIC, 71-670 Szczecin, ul. Przyjaciół Żołnierza 80a

<sup>4</sup>Warszawski Uniwersytet Medyczny w Warszawie, Instytut Stomatologii, Szpital Dzieciątka Jezus, Zakład Stomatologii Zachowawczej, 00-246 Warszawa, ul. Miodowa 18  
e-mail: [michal.wasowicz@interia.eu](mailto:michal.wasowicz@interia.eu)

Osteopatia czaszkowo-żuchwowa jest zespołem objawów wywołanych nieograniczonym rozrostem żuchwy. Syndrom ten najczęściej obserwuje się u młodych psów w wieku 3–6 miesięcy, rzadziej do 10. miesiąca życia. Do ras predysponowanych należą: West Highland White terrier, Scottish terrier, Cairn terrier, Boston terrier, bulldog angielski, owczarek sheltie, jamnik, bokser, labrador, bullmastiff, owczarek niemiecki, doberman, dog niemiecki i pirenejski pies pasterski.

**Cel pracy:** Opis przypadków klinicznych z osteopatią czaszkowo-żuchwową u psów.

**Materiał i metody:** Obserwacje dotyczą czterech psów (3♂, 1♀), rasy West Highland White terrier, w wieku od 12. do 26. tygodnia życia. Zwierzętom wykonano badanie krwi z uwzględnieniem morfologii i biochemii oraz RTG.

**Wyniki i omówienie:** Osteopatię czaszkowo-żuchwową charakteryzują silne zmiany proliferacyjne kości, bez cech zapalenia i nowotworzenia oraz brak regresu w przebiegu. Uważa się, że choroba dziedziczy się wraz genem autosomalnym recesywnym. Określana jest różnymi mianami: osteoartropatia czaszkowo-żuchwowa, osteodystrofia czaszkowo-żuchwowa, zapalenie okostnej żuchwy, „szczęka lwa” lub „szczęka westi”. Diagnozowanie opiera się na badaniu klinicznym, radiologicznym, analitycznym oraz histopatologicznym. W krańcowym stadium choroby może dochodzić do zacierania przestrzeni w obrębie spojenia żuchwy, rozrostowego zabudowania przestrzeni pomiędzy kątem żuchwy i puszką bębinkową oraz zrostami w obrębie stawu skroniowo-żuchwowego. Najczęstszymi objawami są ból, ślinienie, otwarta jama ustna, trudność z pobieraniem pokarmu, brak apetytu. Obok nich, u obserwowanych pacjentów stwierdzano również okresową gorączkę, osowiałość i widoczny dyskomfort zwierzęcia. W badaniu palpacyjnym wyczuwano zmiany rozrostowe, jedno- lub obustronne żuchwy, które wraz z rozwojem choroby obejmowały również puszki bębinkowe. Wyniki badań krwi wskazywały jedynie na podwyższony poziom fosfatazy zasadowej. Chorobę potwierdzono badaniem radiologicznym. Radiogramy obrazowały wzrost gęstości kości poprzez proliferację objętej procesem chorobowym powierzchni okostnej. Zmiany zlokalizowane były w obrębie puszki bębinkowej, trzonów żuchwy, wyrostka kąтового żuchwy oraz części skalistej kości potylicznej. Wdrożone leczenie objawowe opierało się na stosowaniu leków przeciwzapalnych niesteroidowych i steroidowych. W zależności od stanu zwierzęcia podejmowano decyzję o wprowadzeniu do leczenia antybiotykoterapii ogólnoustrojowej. Zniesienie bólu umożliwiło zwierzętom pobieranie wody i pokarmu. W zaawansowanych stanach osteopatii czaszkowo-żuchwowej możliwe jest przeprowadzenie zabiegu chirurgicznego. Polega on na redukcji proliferujących mas, co powoduje zwiększenie ruchomości stawu skroniowo-żuchwowego. Jednak z informacji zamieszczonych w dostępnej literaturze wynika, że opisane przypadki wykonanych operacji nie przyniosły znaczącego pozytywnego rezultatu [1]. Dlatego też, w odniesieniu do badanych psów rokowanie było ostrożne, z tendencją do wątpliwego. Właściciele w dwóch z czterech przypadków zdecydowali się na eutanazję.

### Piśmiennictwo:

[1] Frank J.M. Verstraete, Milinda J. Lommer, 2012. Oral and Maxillofacial Surgery in Dogs and Cats. Saunders Elsevier.





## POMIAR CIŚNIENIA TĘTNICZEGO KRWI U PSÓW METODĄ OSCYLOMETRYCZNĄ W WYBRANYCH STANACH KLINICZNYCH

### BLOOD PRESSURE MEASUREMENT OF OSCYLOMETRIC METHOD IN DOGS IN SELECTED CLINICAL SITUATIONS

**Dagmara Wyłupek, Urszula Kotowicz-Szatkowska, Marcin Garbal**

*Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Zakład Chorób Wewnętrznych Zwierząt Towarzyszących, 20-612 Lublin, Głęboka 30*

Badanie ciśnienia krwi w diagnostyce weterynaryjnej staje się coraz bardziej powszechne. Ze względów technicznych nie jest jednak ono wykonywane rutynowo u wszystkich psów i kotów.

Ciśnienie krwi można mierzyć metodami bezpośrednimi (inwazyjnie) lub pośrednimi (nieinwazyjnie). Bezpośredni, wewnątrznaczyniowy pomiar jest „złotym standardem” monitorowania ciśnienia tętniczego krwi, do którego porównuje się wszystkie inne metody. Metody pośrednie są jednak łatwiejsze do zastosowania, bo wymagają mniejszego ograniczenia ruchu zwierząt i są prostsze technicznie. Do metod tych należą metoda dopplerowska i metoda oscylometryczna. Metoda oscylometryczna jest jedną z bardziej popularnych technik. Opiera się na pomiarze zmian ciśnień wywołanych w pompowanym mankiecie pomiarowym, które są wynikiem istnienia i rozchodzenia się fali tętna.

**Cel pracy:** Analiza wyników pomiaru ciśnienia tętniczego krwi u psów zdrowych i chorych, różnych ras.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono u 100 psów, w różnych stanach klinicznych, przy użyciu kardiomonitora Mindray 9000 z wykorzystaniem mankietów pediatrycznych w rozmiarach od 1 do 4. U każdego psa wykonano 3 kolejne pomiary w ciągu 5–10 min, wyciągnięto średnie arytmetyczne i uzyskano wartość ciśnienia skurczowego, ciśnienia rozkurczowego i liczbę tętna.

**Wyniki i omówienie:** U psów chorych, szczególnie u pacjentów kardiologicznych i u pacjentów z chorobami nerek uzyskano w większości wartości ciśnienia skurczowego ponad górną granicę normy (>160 mmHg), natomiast pacjenci klinicznie zdrowi w niewielkiej tylko części wykazywali wartości mocno odbiegające od ogólnie przyjętych norm. U 11 pacjentów nie uzyskano żadnego pomiaru ze względu na nadmierną ruchliwość lub przekroczony czas pomiaru.

#### **Piśmiennictwo:**

- [1] Atkins C.E., 2007. Feline Hypertension: Risks, Diagnosis and Management. Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association. Sydney, Australia.
- [2] De Francesco T., 2008. When and How to Take Blood Pressure? Interpretation? Proceeding of the Latin American Veterinary Conference. Lima Peru.
- [3] Hoareau G., Jourdan G, Mellema M., Verwaerde P., 2012. Evaluation of Arterial Blood Gases and Arterial Blood Pressures in Brachycephalic Dog J. Vet. Intern. Med., 5:11.
- [4] Larry P. Tilley, Francis W.K. Smith Jr., 2010. Kardiologia psów i kotów.

**SEKCJA  
FIZJOLOGII I PATOLOGII  
PTAKÓW**





## STUDIUM PORÓWNAWCZE STOSOWANIA W STADACH SZCZEPIONEK ŻYWYCH I WEKTOROWYCH PRZECIWKO CHOROBI GUMBORO

### COMPARISON STUDIES BETWEEN LIVE GUMBORO AND VECTOR VACCINES USE IN BROILERS

Udi Ashash

*Phibro Animal Health*

Szczepienia drobiu przeciw chorobie Gumboro są kluczowym czynnikiem ochrony przed wyniszczającymi skutkami choroby. W ostatnich 20 latach żywe szczepionki są szeroko i pomyślnie stosowane w stadach brojlerów, jednak termin szczepienia zależy od poziomu przeciwciał matczynych i muszą być aplikowane między 12. a 16. dniem. W ciągu ostatnich 10 lat stosowano różne rozwiązania w celu uzyskania bardziej dopasowanego i wygodnego szczepienia:

- immunokompleksowe szczepionki,
- szczepionki oparte na wirusie ospy ptasiej używanym jako wektor,
- wirusowe szczepionki oparte na Herpes Wirusie (HVT) używanym jako wektor.

Te nowe szczepionki, w szczególności szczepionki wektorowe r-HTV, okazały się ekonomicznie korzystne w produkcji drobiarskiej w porównaniu z tradycyjnymi szczepionkami. Niemniej jednak, czasem zaobserwowano różne niepowodzenia spowodowane kilkoma właściwościami tych szczepionek.

Podczas wykładu zostaną omówione problemy związane z nowymi szczepionkami oraz zostanie dokonane porównanie z tradycyjnymi, żywymi szczepionkami.



## WPŁYW WYBRANYCH CHEMIOTERAPEUTYKÓW PRZECIWBAKTERYJNYCH NA KSZTAŁTOWANIE ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ U KURCZĄT

### THE INFLUENCE OF SOME ANTIBIOTICS ON IMMUNE RESPONSE IN NEWLY-HATCHED CHICKS

**Klaudia Chrząstek, Maciej Kuczkowski, Alina Wieliczko**

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, klaudia.chrzastek@up.wroc.pl*

Stosowane na szeroką skalę i w dużych ilościach chemioterapeutyki przeciwbakteryjne przyczyniają się do zwiększania lekooporności drobnoustrojów. Dodatkowo, chemioterapeutyki mogą niekorzystnie wpływać na układ odpornościowy ptaków [1, 2]. W produkcji drobiarskiej bardzo często antybiotykoterapia rozpoczyna się we wczesnym okresie życia ptaków (jednodniowe pisklęta), w którym następuje jeszcze rozwój i różnicowanie komórek układu odpornościowego.

**Cel badań:** Poznanie aktywności immunotropowej wybranych chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych u kurcząt z niepobudzonym oraz pobudzonym układem odpornościowym w warunkach interakcji z toksynami bakteryjnymi wydzielanymi w czasie infekcji o podłożu bakteryjnym. Jako model przyjęto działanie LPS z *E. coli* w dawce wywołującej efekt pirogeny.

**Materiał i metody:** 1-dniowe kurczęta Hubbard Flex zostały podzielone na następujące grupy doświadczalne: gr. I i II otrzymujące od 1. do 5. dnia eksperymentu odpowiednio erofloksacynę (10,0 mg/kg m.c.) i florfenikol (30 mg/kg m.c.), grupa III otrzymująca jednorazowo w formie iniekcji ceftiofur (2,0 mg/kg m.c.), oraz grupa kontrolna (otrzymująca ekwiwalent wody do picia). Lipopolisacharyd (LPS) izolowany z *E. coli* (O127:B8, Sigma, LOT 048K4001, 600'000 u/mg) został podany dożylnie w PBS w dawce 200µg /kg m.c. Po dożylnym podaniu LPS dokonywano 5-krotnego pomiaru wewnętrznej ciepłoty ciała kurcząt w okresie 24 godzin. W 7. oraz 14. dniu doświadczenia pobrano od kurcząt z wszystkich grup doświadczalnych narządy limfatyczne (grasica, śledziona, bursa Fabrycjusza) do badań immunocytochemicznych.

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone badania pozwoliły określić efekt, jaki wywierają wybrane chemioterapeutyki (podawane w dawkach terapeutycznych) na komórki układu odpornościowego. Wykazano spadek odsetka komórek Bu-1<sup>+</sup> w bursie Fabrycjusza w 7. dniu życia we wszystkich grupach otrzymujących chemioterapeutyki, co może mieć znaczenie w praktyce, w przypadku stosowanej w tych dniach immunoprofilaktyki. Należy jednak zauważyć, że efekt ten nie był już widoczny w dniu 14. Ponadto, wykazano spadek procentowego odsetka limfocytów cytotoksycznych w śledzionie, szczególnie TCRγδ<sup>+</sup> w 6. i 14. dniu życia, który był potencjalizowany działaniem LPS *E. coli*. Może to sugerować o immunosupresyjnym wpływie, jaki wywierają chemioterapeutyki na odpowiedź immunologiczną na czas działania endotoksyn bakteryjnych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Chrząstek K., Madej J.P., Mytnik E., Wieliczko A., 2011. The influence of antibiotics on B-cell number, percentage, and distribution in the bursa of Fabricius of newly hatched chicks. *Poult. Sci.* 90, 2723–2729.
- [2] Tokarzewski, S., 2002. Influence of enrofloxacin and chloramphenicol on the level of IgY in serum and egg yolk after immunostimulation of hens with *Salmonella Enteritidis* antigens. *Pol. J. Vet. Sci.* 5, 151–158.

*Badania współfinansowane przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.*





## DYLEMATY PRAKTYCZNEJ DIAGNOSTYKI ZAKAŻEŃ *ENTEROCOCCUS* SPP. U KUR

### DILEMMAS OF PRACTICAL DIAGNOSIS OF INFECTION *ENTEROCOCCUS* SPP. IN POULTRY

Beata Dolka, Piotr Szeleszczuk

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa, e-mail: beata\_dolka@sggw.pl

Tematem budzącym aktualnie wiele kontrowersji i sprzecznych opinii w środowisku patologów drobiu i producentów, zwłaszcza kurcząt rzeźnych, są infekcje wywołane przez enterokoki. Jak wynika z praktycznych obserwacji autorów, fakt izolacji tych zarazków jest przedmiotem wielu reklamacji jakości piskląt brojlerowskich. Mimo że nie ma do takiej opinii uzasadnionych podstaw, zakłada się, że miejscem infekcji dla piskląt jest ZWD. W przypadku izolacji enterokoków od jednodniowych piskląt i po stwierdzeniu problemów zdrowotnych wywołanych przez te bakterie u ptaków starszych zakłada się, że są to te same patogeny. Czy tak jest jednak w istocie? Bez dokładnych badań molekularnych trudno jest ten problem jednoznacznie rozstrzygnąć! W krajowych realiach wykonanie pogłębionej analizy ograniczone jest możliwościami diagnostycznymi laboratoriów i wysokimi kosztami takich badań. Dodatkowym utrudnieniem diagnostycznym jest fakt, że enterokoki są komensalami przewodu pokarmowego, a ich koncentracja w kale zdrowej kury wynosi około  $3,4 \times 10^6$  komórek/gram. Bakterie te występują powszechnie w środowisku i łatwo mogą zanieczyszczać pobierane próby. Enterokoki uważane są za specyficzne wskaźniki zanieczyszczenia kałem, między innymi *E. faecalis* został uznany za wskaźnik czystości wód. Wykazano, że *E. faecalis* i *E. faecium* dominują w mikroflorze u jednodniowych piskląt kurzych, lecz u 3–5 tygodniowych ptaków *E. faecalis* był już rzadziej stwierdzany. Tylko niektóre szczepy z ponad trzydziestu gatunków enterokoków są patogenne dla ptaków. U drobiu spośród wielu gatunków enterokoków najważniejsze znaczenie patologiczne mają *E. faecalis*, który powoduje amyloidozę związaną ze zwyrodnieniem stawów (amyloid arthropathy) i zespół nadciśnienia płucnego u brojlerów (Pulmonary Hypertension Syndrome); *E. faecium*, *E. hirae* wywołujące zapalenie wśierdza i osteomyelitis; *E. durans* jako przyczyna bakteriemii i encefalomalacji; *E. cecorum* odpowiedzialny za udział w enterokokowej chorobie zwyrodnieniowej stawów kręgosłupa u kur (Enterococcal Vertebral Osteoarthritis) oraz znacznie rzadziej inne gatunki: *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. raffinosus* [1].

Standardową metodą diagnostyczną zakażeń wywołanych przez te zarazki jest oczywiście klasyczne badanie bakteriologiczne. Właściwe pobranie i transport materiału, jako pierwszy istotny etap badania mikrobiologicznego, jest zasadniczym elementem decydującym o wiarygodności hodowli bakterii. W celu izolacji enterokoków używa się podstawowych podłoży wzbogaconych (agar z krwią owczą), jak i podłoży selektywnych, różnicujących, do hodowli paciorkowców z grupy D wg Lancefield (m.in. KAA agar, Bile Esculin Azide Agar). Biochemiczne różnicowanie enterokoków opiera się na systemach API dla paciorkowców. Ustalenie przynależności gatunkowej enterokoków izolowanych od drobiu jest standardowo wykonywane, choć niekiedy mało wiarygodne.

Wszędzie tam gdzie jest to możliwe i opłacalne, diagnostyka klasyczna zakażeń enterokokami powinna być zastąpiona albo uzupełniona metodami z zakresu biologii molekularnej. Techniki biologii molekularnej umożliwiają m.in. wykrycie obecności materiału genetycznego enterokoków ich identyfikację i typowanie oraz odróżnianie od gatunków bakterii o zbliżonych cechach (*Streptococcus*, *Lactococcus*), a także wykrycie – określonych genów warunkujących m.in. antybiotykooporność oraz, co ma istotne znaczenie w epidemiologii, określenie powiązań filogenetycznych. Do technik biologii molekularnej najczęściej stosowanych w diagnostyce należą PCR i modyfikacje, techniki elektroforetyczne oraz sekwencjonowanie. Między innymi przeprowadzone badania genetyczne izolatów *E. cecorum* pozwoliły na wykluczenie transowarialnej drogi zakażenia tym patogenem u kurcząt brojlerów [2]. Jak się wydaje, konieczne jest pilne wprowadzenie nowych technik badawczych do praktycznej diagnostyki infekcji enterokokami w kraju.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dolka B., Szeleszczuk P., 2012. Enterokokowa choroba zwyrodnieniowa stawów kręgosłupa u kur. Med. Wet., 68,153–158.
- [2] Kense M. J., Landman W. J., 2011. *Enterococcus cecorum* infections in broiler breeders and their offspring: molecular epidemiology. Avian Pathol., 40, 603–612.



## KORONAWIRUSY W POPULACJACH PTAKÓW W POLSCE

### CORONAVIRUS IN BIRDS POPULATIONS IN POLAND

Katarzyna Domańska-Blicharz, Anna Jacukowicz, Anna Lisowska, Zenon Minta

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Drobiu,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: domanska@piwet.pulawy.pl

Zakażenia koronawirusami (CoVs) wywołują różne schorzenia, zarówno układu oddechowego, pokarmowego, wydalniczego, rozrodczego jak również nerwowego u różnych gatunków zwierząt, a także ludzi [1]. Genom CoV to jednoniciowe RNA o wielkości 27–30 kbp i fakt ten w dużej mierze odpowiedzialny jest za tak dużą różnorodność CoV. Według obecnie obowiązującej taksonomii koronawirusy ptaków (ACoV), tzn. wirus zakaźnego zapalenia oskrzeli (Infectious Bronchitis Virus – IBV), koronawirus indyków (Turkey Coronavirus – TCoV) oraz CoV wykrywane ostatnio u różnych gatunków ptaków, należą do rodzaju *Gammacoronavirus* [2].

**Cel pracy:** Określenie prevalencji koronawirusów w populacjach ptaków w Polsce, tj. w populacji drobiu grzebiącego występowanie IBV i TCoV. Podjęto także badania nad występowaniem CoVs w populacji ptaków dzikich oraz próby ich charakterystyki molekularnej.

**Materiał i metody:** Do badań nad występowaniem IBV wykorzystano namnożone na zarodkach kurzych SPF materiały z lat 1980–2006, a także wymazy kałowe i narządy/tkanki kur wykazujących objawy sugerujące IB z lat 2006 – maj 2012. Materiał do badań nad występowaniem koronawirusów u indyków i ptaków dzikich stanowiły wymazy kałowe pobierane w przypadku indyków w latach 2008 – maj 2012, natomiast w przypadku ptaków dzikich w latach 2008–2010. Do wykrywania koronawirusów ptaków zastosowano metodę real-time RT-PCR (rRT-PCR) ukierunkowaną na wykrywanie wysoce konserwatywnego regionu 5'UTR genu CoV. Próbkę dodatkowo w tym teście poddawano kolejnym badaniom molekularnym: w przypadku IBV sekwencjonowano fragment genu S (wypustka wirusowa), w przypadku koronawirusów indyków i ptaków dzikich fragment genu N (nukleokapsyd) i RdRp (polimeraza wirusowa).

**Wyniki i omówienie:** Spośród 22 szczepów IBV, w których zsekwencjonowano cały gen S1 o wielkości ok. 1600 pz, cztery (18,2%) należały do typu Mass (trzy szczepy z lat 1980–1089 oraz jeden z 2011), sześć (27,3%) do typu 793B (trzy z roku 1997 oraz po jednym z roku 2004, 2005 i 2010), osiem (36,4%) szczepów z lat 2004–2011 do typu QX, natomiast jeden (4,5%) szczep z roku 1997 wykazywał największą homologię do wariantów atypowych IBV wykrywanych na terenie Federacji Rosyjskiej. Trzy (13,6%) szczepy IBV z okresu listopad 2011 – maj 2012 wykazywały największe podobieństwo do typu D1466. Tak więc badania retrospektywne sekwencji nukleotydowej genu S1 szczepów IBV wskazują na dużą zmienność sytuacji epidemiologicznej IBV w kraju na przestrzeni ostatnich 30 lat i jednocześnie uzasadniają konieczność ciągłego monitorowania tej sytuacji.

Spośród przebadanych 220 stad indyków w 20 stadach (9,1%) stwierdzono obecność genu TCoV, przy czym próbki dodatkowo notowano tylko w latach 2009–2010. Z kolei spośród przebadanych 699 próbek od ptaków dzikich obecność koronawirusów wykryto w 22 (3,1%) próbkach, które pochodziły od ptaków z rzędu blaszkodziobych (10 kaczek, 6 gęsi oraz 1 łabędź), grzebiących (3 bażanty) i siewkowych (2 mewy). Analiza filogenetyczna opierając się na fragmentach genu N wybranych TCoV oraz CoV od ptaków dzikich wskazuje na ich przynależność do grupy wirusów europejskich. Większe zróżnicowanie na kilka grup filogenetycznych obserwowano w przypadku analizy filogenetycznej genu polimerazy. Część TCoV oraz CoV od ptaków dzikich znajdowało się we wspólnej podgrupie filogenetycznej, natomiast część TCoV w podgrupie, w której znajdowały się TCoV z Fracji oraz IBV typu QX. Przeprowadzone badania sugerują istnienie kilku rezerwarów ACoV oraz rolę ptaków dzikich w rozprzestrzenianiu CoV, co może wpływać na obserwowaną zmienność IBV.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cavanagh D., 2005. Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian. Pathol.* 34, 439–448.
- [2] Muradrasoli S., Balint A., Wahlgren J., Waldenstrom J., Belak S., Blomberg J., Olsen B., 2010. Prevalence and phylogeny of coronaviruses in wild birds from the Bering Strait area (Beringia). *PLoS One* 5:e13640.



## PROCESY OKSYDACYJNE W PRODUKCJI DROBIARSKIEJ

### OXIDATIVE PROCESSES IN POULTRY PRODUCTION

Mateusz Samul

Lohmann Animal Health Polska Sp. z o.o., mateusz.samul@lohmann.de

Autooksydacja lipidów jest procesem bardzo skomplikowanym, jednak dobrze poznanym przez świat nauki. Proces ten odgrywa bardzo dużą, ale negatywną rolę w produkcji mięsa. Odpowiadają za niego wolne rodniki. Określa się nimi atomy, molekuly lub inne związki, które zawierają minimum jeden niesparowany elektron. Powstają one w komórkach organizmu w czasie wytwarzania energii w mitochondriach, a także są dostarczane wraz ze zjadaną paszą. Znaczenie autooksydacji lipidów można rozpatrywać na 3 różnych etapach łańcucha produkcji mięsa, tj. produkcji pasz, hodowli, magazynowania mięsa. Aby bronić się przed wolnymi rodnikami, organizm wytworzył pewne mechanizmy obronne opierając się na przeciwutleniaczach, tj. wit. E., wit. C, selenie (peroksydaza glutationowa), cynku, miedzi, magnezu (dysmutaza ponadtlenkowa).

W jednym doświadczeniu badano wpływ jakości tłuszczu (oleju) oraz dodatku wit. E i selenu do paszy na wydajność produkcji brojlerów. Uzyskane wyniki w postaci takich parametrów jak: pobranie paszy, dzienny przyrost masy ciała czy współczynnik konwersji paszy dowodzą, że dobrej jakości tłuszcz odgrywał kluczową rolę w efektywności tuczu. Dodatek wit. E i selenu w żywieniu z utlenionymi tłuszczami okazał się dużo mniej skuteczny.

Inne badania przeprowadzono z wykorzystaniem mieszanin syntetycznych przeciwutleniaczy (BHA, BHT, etoksyquina) na różnych stadach indyków oraz brojlerów. Stada zostały podzielone na dwie grupy – grupa kontrolna bez dodatku mieszanin przeciwutleniaczy w paszy oraz grupa, w której taki dodatek został zaimplementowany do paszy. Badano wyniki produkcyjne poszczególnych stad, a także zawartość wit. E (naturalny przeciwutleniacz) w tkankach.

Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że stosowanie mieszanin przeciwutleniaczy w paszach, tłuszczach ma pozytywny wpływ na wyniki produkcyjne. Zwiększone wykorzystanie wit. E z paszy (wielokrotnie wyższe stężenie w tkankach) zapewnia optymalną ochronę przed wolnymi rodnikami. Istotny jest również aspekt ekonomiczny, który obrazuje, iż bardziej opłaca się stosować mieszaniny przeciwutleniaczy, niż zwiększać dawkę wit. E w paszy (naturalny przeciwutleniacz).

Zbadano również wpływ stosowania mieszanin przeciwutleniaczy na proces produkcji pasz. Jako wskaźnik intensywności procesu autooksydacji posłużył propanal, mierzony 14., 20., 34. i 57. dnia (uboczny produkt oksydacji, zmierzony za pomocą Head Space GC). Wzięto pod uwagę 3 rodzaje pasz, tj. nieprzetworzoną, granulowaną w temp. 65°C oraz granulowaną w temp. 80°C. W każdym z badanych przypadków stężenie propanalu było niższe w paszach z dodatkiem mieszaniny przeciwutleniaczy. Proces produkcji wywiera wpływ na zniszczenia oksydacyjne mieszanek paszowych.

Przeciwutleniacze mogą chronić pasze przed zniszczeniem w czasie procesu produkcji i magazynowania. Pasje muszą być chronione przed utlenianiem za pomocą skutecznych antyutleniaczy, które mogą zapobiec tworzeniu się wolnych rodników w procesie produkcji, magazynowania i podczas trawienia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Drozdowski B., 2002. Lipidy, [w:] Chemia Żywności. Red. Z.E. Sikorski. WNT, Warszawa: 171–228.
- [2] Jensen C., Lauridsen C., Bertelsen G., 1998. Dietary vitamin E: quality and storage stability of pork and poultry. Trends Food Sci. Technol. 9, 62–72.
- [3] Malczyk E., 1999. Wpływ systemu żywienia kurcząt na procesy oksydacyjne zachodzące w mięsie przechowywanym chłodniczo. Żywn. Technol. Jakość 3, 137–150.
- [4] Pikul J., 1997. Zapobieganie utlenianiu lipidów mięsa drobiu poprzez wzbogacanie pasz związkami witaminowo-E aktywnymi. Gosp. Mięsna, 1, 34–38.



## WYBRANE PARAMETRY LOKALNEJ ODPORNOŚCI KOMÓRKOWEJ ORAZ HUMORALNEJ U INDYKÓW UODPORNIANYCH PRZECIWKO TRT

### SELECTED PARAMETERS OF LOCAL CELL-MEDIATED AND HUMORAL IMMUNITY IN TURKEYS IMMUNISED AGAINST THE TRT

Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Tomasz Stenzel, Andrzej Koncicki

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Katedra Chorób Ptaków, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: aka.martino@wp.pl

Ptasie metapneumowirusy (*avian Metapneumovirus* – aMPV) są silnie zakaźnym czynnikiem wywołującym infekcje górnych dróg oddechowych (GDO) u indyków jak i u kur. Choroba wywołwana przez aMPV u indyków opisywana jest jako zakaźne zapalenie nosa i tchawicy (TRT – turkey rhinotracheitis).

Obecnie stosowane programy szczepień profilaktycznych w stadach reprodukcyjnych stymulują produkcję wysokich mian przeciwciał IgY, które przekazywane do jaj zabezpieczają klujące się z nich pisklęta w pierwszych dniach ich życia. Badania nad odpornością humoralną w przebiegu zakażenia aMPV wskazują jednak na brak korelacji pomiędzy mianem swoistych przeciwciał IgY a stopniem odporności na TRT. Wy-musza to konieczność szczepienia piskląt w pierwszym dniu ich życia.

**Cel badań:** Określenie kształtowania się wybranych parametrów lokalnej odporności na terenie GDO u piskląt indyckich (ze stada reprodukcyjnego szczepionego przeciwko aMPV) w odpowiedzi na aerozolowe szczepienie przeciwko TRT.

**Materiał i metody:** Jednodniowe pisklęta indyckie typu Big 9 podzielono na dwie grupy. Ptaki z grupy II w pierwszym dniu życia uodporniono szczepionką Poulvac®TRT (ScanVet, Polska) metodą dużej kropli. W tym samym czasie ptaki z grupy I otrzymały aerozolowo sterylny PBS.

W 3., 7. i 14. dniu po szczepieniu od indyków z obu grup pobierano krew, gruczoły Hardera (HG) oraz popłuczyny z tchawicy. HG posłużyły do oznaczenia procentowego udziału limfocytów T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> oraz B o izotypie IgM<sup>+</sup> i IgA<sup>+</sup>, z wykorzystaniem cytometru przepływowego BD FACSCanto II (BD, USA). W popłuczynach z tchawicy i w surowicy krwi oznaczano miano przeciwciał IgY anty-aMPV z wykorzystaniem dwóch komercyjnych testów oraz in-house ELISA.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki wskazują na sukcesywny spadek mian przeciwciał IgY anty-aMPV w surowicy krwi i w popłuczynach z tchawicy u indyków z obu grup, przy czym był on szybszy w grupie II (indyki uodporniane). Wyniki te sugerują, że wirus szczepionkowy mógł podlegać neutralizacji przez immunoglobuliny matczyne, co w procesie immunofagocytozy mogło przyczynić się do spadku ich mian. Z drugiej strony, przeciwciała te neutralizując wirus, mogły zahamować swoistą reakcję immunologiczną, w tym wytworzenie przeciwciał IgY w odpowiedzi na szczepienie.

U ptaków grupy II, między 3. a 7. dniem po szczepieniu stwierdzono w HG krótkotrwały wzrost odsetka obu badanych subpopulacji limfocytów T, a w 14. dobie zanotowano jedynie niewielką przewagę komórek CD4<sup>+</sup> w porównaniu z indykami z grupy I. Wyniki te korespondują z wynikami Limaña i Rautenschlein [2007], którzy stwierdzili wzrost odsetka limfocytów T CD4<sup>+</sup> w HG u 35 dniowych indyków w 7.–14. dniu po szczepieniu przeciwko TRT, podczas gdy odsetek limfocytów T CD8<sup>+</sup> nie ulegał wówczas zmianie. Zanotowany w naszych badaniach wzrost odsetka subpopulacji limfocytów CD8<sup>+</sup> może być związany z wiekiem uodpornianych ptaków.

U indyków w grupie II, między 3.–7. dniem po szczepieniu w HG wzrastał odsetek komórek B IgM<sup>+</sup>. Równocześnie od 3. dnia, ze szczytem między 7. a 14. dniem po szczepieniu, dochodziło do zwiększenia odsetka komórek B IgA<sup>+</sup>.

Biorąc pod uwagę stwierdzony równoczesny wzrost odsetka limfocytów T CD4<sup>+</sup> oraz wzrost liczby komórek B IgA<sup>+</sup> na terenie HG, możemy przypuszczać, iż komórki T CD4<sup>+</sup> poprzez wydzielane cytokiny przyczyniają się do wzrostu produkcji oraz wydzielania IgA anty-aMPV. Obecnie mało wiadomo na temat roli IgA w odporności indyków zakażonych aMPV.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Liman M., Rautenschlein S., 2007. Induction of local and systemic immune reactions following infection of turkeys with avian Metapneumovirus (aMPV) subtypes A and B. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 115, 273–285.





## OTRZYMANIE REKOMBINOWANEGO BIAŁKA VP3 WIRUSA CHOROBY DERZSY'EGO (DDV)

## DEVELOPMENT OF VP3 RECOMBINANT PROTEIN OF DERZSY DISEASE VIRUS (DDV)

Karolina Tarasiuk, Grzegorz Woźniakowski, Elżbieta Samorek-Salamonowicz

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Chorób Wirusowych Drobiu, 24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57, e-mail: ktarasiuk@piwet.pulawy.pl

Choroba Derzsy'ego występująca u gęsi i kaczek piżmowych jest jednym z najistotniejszych problemów w intensywnej hodowli drobiu wodnego. Czynnikiem etiologicznym opisywanej jednostki jest wirus z rodziny *Parvoviridae*, rodzaju *Dependovirus*. Najbardziej wrażliwe są 1–7-dniowe gąsięta, u których śmiertelność może dochodzić nawet do 100%. W kraju od ponad 20 lat są prowadzone szczepienia ochronne gęsi stad reprodukcyjnych, a obecnie także stad towarowych. Stosowane są szczepionki „żywe” oparte na atenuowanych szczepach parwowirusa choroby Derzsy'ego oraz biwalentna szczepionka olejowa, w skład której wchodzi inaktywowany parwowirus gęsi i parwowirus kaczki piżmowej. Ze względu na zmienność wirusa wymagane są modyfikacje obecnie stosowanych szczepionek.

**Cel badań:** Otrzymanie rekombinowanego białka VP3 wirusa choroby Derzsy'ego, które będzie wykorzystane do opracowania nowej, rekombinowanej szczepionki oraz opłaszczenia płytek do testu ELISA.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowił terenowy szczep 24/03, wyizolowany z przypadku terenowego choroby Derzsy'ego. Wirus namnażano w hodowli fibroblastów zarodków gęsi (GEF), oceniając efekt cytopatyczny (CPE). Z zakażonych komórek izolowano całkowity, komórkowy DNA (Qiagen, USA), który wykorzystano do reakcji amplifikacji przy użyciu starterów zaprojektowanych na podstawie sekwencji genu kodującego białko VP3. Uzyskany produkt PCR pocięto przy użyciu enzymów restrykcyjnych i zmieszano *in vitro* z wektorem pET6-HN, uciętym tymi samymi restryktazami: *Sall* oraz *HindIII*. Otrzymane po trawieniu lepkie końce (ang. sticky ends) połączono przy udziale ligazy DNA faga T4. Hybrydowe cząsteczki DNA wprowadzono drogą transformacji do komórek biorcy (*E.coli* BL21 Rosseta). Klony wyselekcjonowano na odpowiednim podłożu, a prawidłową orientację insertu potwierdzono poprzez sekwencjonowanie. Oczyszczanie białka wykonano przy użyciu chromatografii metalopowinowactwa, a następnie wykonano elektroforezę białek w żelu poliakrylamidowym w obecności siarczanu dodecyłu sodu (SDS-PAGE). Po wybarwieniu żelu przeprowadzono wizualizację żelu poliakrylamidowego.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie przeprowadzonej analizy ciężaru molekularnego białek rozdzielonych w SDS-PAGE stwierdzono obecność białka o oczekiwanej wielkości ok. 60 kDa. Proteina VP3 jest najliczniejszym białkiem kapsydu parwowirusa gęsi i ulega wydajniejszej ekspresji niż pozostałe białka strukturalne, tj. VP1, VP2 [1]. Obecnie stosowane szczepionki oparte są na namnażaniu wirusa choroby Derzsy'ego w hodowli z zarodków gęsi, co jest pracochłonne i drogie. Z uwagi na wysoką immunogenność opisywanego białka [2] i zmienność wirusa konieczne jest opracowanie nowej szczepionki, otrzymywanej w systemie ekspresyjnym *E. coli*.

### Piśmiennictwo:

- [1] Zhang Y. et al., 2010. Development and evaluation of VP3-ELISA for the detection of goose and Muscovy duck parvovirus antibodies, *Journal of Virological Methods*, 163, 405–409.
- [2] Le Gall-Recule et al., 1996. Expression of muscovy duck parvovirus capsid proteins.





## PARAZYTOFAUNA PRZEWODU POKARMOWEGO WARSZAWSKICH GOŁĘBI MIEJSKICH (*COLUMBA LIVIA FORMA URBANA*)

### THE PREVALENCE OF GASTROINTESTINAL PARASITES OF URBAN PIGEONS (*COLUMBA LIVIA FORMA URBANA*) IN WARSAW

Maria Biernacka<sup>1</sup>, Katarzyna Witt<sup>1</sup>, Wojciech Młodawski<sup>1</sup>, Sylwia Doner<sup>2</sup>, Piotr Szeleszczuk<sup>2</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, <sup>1</sup>studenci VI roku Wydział Medycyny Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa, adres e-mail: marbynia@o2.pl

<sup>2</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Gołąb miejski (*Columbia livia forma Urbana*) jest synantropijnym ptakiem powszechnie występującym w aglomeracjach miejskich. Celem wykonanego badania była próba określenia stopnia inwazji pasożytów przewodu pokarmowego gołębi miejskich z różnych dzielnic Warszawy. W opisaney pracy wzorowano się na podobnych badaniach, przeprowadzonych również w innych miastach Polski, tj. we Wrocławiu oraz w północnej części Polski, podczas których badano populację gołębia pocztowego [1, 3].

**Materiał i metody:** Badanie przeprowadzono w IV kwartale 2011 r. Do badania pobrano 106 próbek kału gołębi z 6 rejonów Warszawy (Ursynów, Natolin, Centrum, Śródmieście, Mokotów, Żoliborz). Wszystkie próbki były pobierane osobno do plastikowych probówek z odpowiednim oznaczeniem. Do badania zakwalifikowano 78 próbek. W badaniach zastosowano standardową metodę flotacji. Sporządzono rozmaz bezpośredni. W celu określenia intensywności inwazji przyjęto 4-stopniową skalę oceny [2].

**Wyniki i omówienie:** Na 78 próbek inwazję pasożytów stwierdzono w 57 próbach. W obrazie mikroskopowym dominowały oocysty *Eimeria spp.* oraz *Capillaria spp.* Jaja *Capilaria spp.* stwierdzono w 28 próbkach. Jaja nicieni z rodzaju *Ascaridia* występowały rzadziej i stwierdzono je w 7 próbkach. Procentowy udział poszczególnych inwazji pasożytniczych wyniósł: 64% – *Eimeria spp.*, 25% – *Capilaria spp.* oraz 11% – *Ascaridia spp.* W próbkach kału pochodzących z Żoliborza stwierdzono największą inwazję *Eimeria spp.* oraz *Ascaridia spp.* Z kolei *Capilaria spp.* występowała najczęściej w próbkach kału pochodzących ze Śródmieścia. Podobnie, jak w populacji wrocławskiej, gołębie z terenu Warszawy charakteryzują się wysokim odsetkiem inwazji pasożytów jelitowych. W Warszawie odsetek ten dotyczył 73% badanych ptaków, co daje wynik o około 30% wyższy niż we Wrocławiu (47,5%). Charakterystyczne jest wspólne występowanie inwazji *Eimeria spp.* wraz z inwazją *Capilaria spp.* niemal w połowie badanych próbek. Wykonano również mapę miasta, na której umieszczono informacje dotyczące miejsc, w których pobierano próbki (z uwzględnieniem rodzaju podłoża) oraz pasożytów, występujących u gołębi w określonych dzielnicach Warszawy. Przypuszcza się, iż pora roku (brak obecności młodych gołębi) może wpływać na wyniki wykonanych badań.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Piasecki T., 2006. Ocena stanu zdrowotnego gołębi miejskich w aspekcie zagrożenia zdrowia ludzi. Med. Wet., 62, 531–535.
- [2] Szeleszczuk P., Kruszewicz A., 1986. Wyniki parazytologicznego badania kału gołębi pocztowych Okręgu Warszawskiego. Hodowca Gołębi Pocztych, 60, 6–8.
- [3] Stenzel T., Koncicki A., 2007. Occurrence of parasitic invasions in domestic pigeons (*Columbia livia domestica*) in the Northern Poland, Pol. J. Vet. Sci., 10, 275–278.



## RÓŻYCA U GĘSI – CHARAKTERYSTYKA BIOCHEMICZNA I GENETYCZNA IZOLATÓW WŁOSKOWCA RÓŻYCY Z TERENOWYCH PRZYPADKÓW CHOROBY

### ERYSIPELAS IN GEESE – BIOCHEMICAL AND MOLECULAR CHARACTERISATION ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE ISOLATES FROM FIELD CASES

Kamila Bobrek, Andrzej Gawęł, Michał Mazurkiewicz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: kamila.bobrek@up.wroc.pl

Różyca jest chorobą wywoływaną przez włoskowiec różycy (*Erysipelothrix rhusiopathiae*), Gram-dodatnią pałeczkę, oporną na czynniki środowiska. Włoskowiec różycy jest izolowany od wielu gatunków kręgowców, w tym u ptaków zarówno dzikich, jak i hodowlanych. Różyca u gęsi ma najczęściej postać ostrą. Ptaki są apatyczne, osłabione, upadki następują nagle, najczęściej w przeciągu kilku godzin od pierwszych objawów. Sekcyjnie stwierdza się wybroczyny na osierdziu, trzustce, torebce wątroby, może dojść również do krwotocznego zapalenia jelit i obrzęku płuc.

**Cel pracy:** Porównanie cech morfologicznych, biochemicznych oraz charakterystyka molekularna szczepów *E. rhusiopathiae* wyizolowanych z przypadków różycy u gęsi.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 30 szczepów *E. rhusiopathiae* wyizolowanych od padłych gęsi w latach 2007–2011. Identyfikacja szczepów została oparta na ocenie podstawowych cech morfologicznych i biochemicznych z użyciem testu ApiCoryne (bioMerieux) oraz genetycznych z użyciem par primerów specyficznych rodzajowo i gatunkowo MO, ER1, ER2 oraz krótkich primerów NK6, NK51 [1, 2].

**Wyniki i omówienie:** Badane szczepy wykazywały zbliżone cechy morfologiczne kolonii wszystkich izolatów, z wąską strefą hemolizy na agarze krwawym. Testy z użyciem zestawu ApiCoryne (bioMerieux) wykazały różnice we właściwościach biochemicznych pomiędzy badanymi izolatami. Spośród 30 szczepów 23 zostały zakwalifikowane do gatunku *Erysipelothrix rhusiopathiae* z ponad 90% zgodnością identyfikacji. Dla 20 szczepów uzyskano kod 4020340, uzyskując 99,9% zgodności z gatunkiem *Erysipelothrix rhusiopathiae*, jeden szczep wykazał 98,1% zgodności, a dwa 92,6% zgodności z *E. rhusiopathiae*. Spośród badanych izolatów 6 nie zostało zakwalifikowanych jako *E. rhusiopathiae* w pierwszej kolejności, lecz *E. rhusiopathiae* został podany jako kolejny możliwy takson. Cztery szczepy zostały zakwalifikowane jako *Arcanobacterium haemolyticum*, a jeden jako *Gardenerella vaginalis*. Przynależność taksonomiczna do gatunku *E. rhusiopathiae* wynosiła 10,6–17,9%. Jeden ze szczepów został uznany jako niemożliwy do identyfikacji.

Z kolei badania genetyczne z użyciem par primerów MO, ER1 i ER 2 potwierdziły przynależność wszystkich 30 badanych szczepów do rodzaju *Erysipelothrix* i gatunku *E. rhusiopathiae*.

Badanie z użyciem krótkich primerów NK6 i NK 51 wykazało niewielkie zróżnicowanie genetyczne wśród wyizolowanych szczepów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Okatani A., Hayashidani H., Takahashi T., Taniguchi T., Ogawa M., Kaneko K., 2000. Randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Erysipelothrix spp.* J Clin Microbiol., 38, 4332–4336.
- [2] Takeshi K., Makino S., Ikeda T., Takada N., Nakashiro A., Nakanishi K., Oguma K., Katoh Y., Sunagawa H., Ohyama T., 1999. Direct and rapid detection by PCR of *Erysipelothrix sp.* DNAs prepared from bacterial strains and animal tissues. J. Clin. Microbiol., 37, 4093–4098.



## GENETYCZNA IDENTYFIKACJA GATUNKÓW *EIMERIA SPP.* WYWOŁUJĄCYCH KOKCYDIOZĘ KUR NA TERENIE POLSKI

### GENETIC IDENTIFICATION OF *EIMERIA SPP.* CAUSING COCCIDIOSIS IN BREEDER AND BROILER FLOCK IN POLAND

Katarzyna Bobusia, Andrzej Gawęł

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: katarzyna.bobusia@gmail.com

Kokcydioza jest chorobą pasożytniczą wywoływaną przez pierwotniaki z rodzaju *Eimeria*. Znana jest od przeszło 100 lat, a mimo to nadal stanowi poważny problem w wielkotowarowej produkcji drobiarskiej. Kokcydioza powoduje największe straty ekonomiczne spośród wszystkich chorób występujących u drobiu grzebiącego. Na straty te składają się nie tylko koszty spowodowane upadkami ptaków i leczeniem stad, ale również te spowodowane zwiększonym zużyciem paszy i gorszymi przyrostami zwierząt.

**Cel pracy:** Identyfikacja genetyczna gatunków *Eimeria spp.* wywołujących zarażenia u kur na terenie Polski.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły wycinki jelit ptaków pochodzących z 78 ferm kurcząt brojlerów i kur reprodukcyjnych, u których na podstawie objawów klinicznych i badań anatomopatologicznych podejrzewano wystąpienie kokcydiozy. Z prób izolowano całkowite DNA, w tym również *Eimeria spp.* pochodzące z form rozwojowych kokcydii, znajdujących się w enterocytach nabłonka jelit, przy użyciu komercyjnego zestawu Genomic Mini firmy AA Biotechnology. Uzyskany materiał poddawany był badaniu z wykorzystaniem techniki PCR przy użyciu primerów specyficznych dla poszczególnych gatunków kokcydii: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. tenella*, *E. mitis*, *E. praecox*, *E. Maxima*, *E. necatrix* oraz primerów ogólnych dla rodzaju *Eimeria* [2, 3].

**Wyniki i omówienie:** Spośród przebadanych prób 13 uznano za próby dodatnie (16,7%). W większości przypadków stwierdzono inwazję jednym gatunkiem *Eimeria* (76,9%). Najczęściej izolowanymi gatunkami były *Eimeria tenella* – 46,1%, następnie *Eimeria necatrix* – 30,8% oraz *Eimeria acervulina* – 23,1%.

Wyniki badań własnych różnią się od badań przeprowadzonych na terenie Dolnego Śląska, z których wynika, że 69% przypadków kokcydiozy wywoływane było przez co najmniej 2 gatunki, za to tylko 31% przez jeden gatunek *Eimeria*. Najczęściej izolowane były *E. acervulina* (83%) oraz *E. tenella* (65%) [1].

Przedstawiona praca stanowi element badań nad epidemiologią kokcydiozy w Polsce. Badania będą kontynuowane.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Antonik S., Okulewicz A., Gawęł A., Mazurkiewicz M., 2008. Występowanie gatunków *Eimeria* u kur na terenie Dolnego Śląska, Med. Wet. 64, 886–888.
- [2] Jenkins M.C., Miska K., Kloop S., 2006. Application of polimerase chain reaction based on ITS1 rDNA to speciate *Eimeria*, Avian Diseases 50, 110–114.
- [3] Patra G., Ayub Ali M., Chanu V., Jonathan L., Joy L.K., Prava M., Ravindran R., Das G., Devi I., 2010. PCR based diagnosis of *Eimeria tenella* infection in broiler chicken, International Journal of Poultry Science, 9, 813–818.



## CYTOMETRYCZNA ANALIZA ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ PO PODANIU ODN CPG U KURCZĄT

### FLOW CYTOMETRIC ASSESMENT OF LYMPHOCYTES AFTER ODN CPG INJECTION IN CHICKS

Klaudia Chrząstek, Alina Wieliczko

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, klaudia.chrzastek@up.wroc.pl

W wykrywaniu antygenów bakteryjnych ważne są receptory rozpoznające molekularne wzorce patogenów (PAMP – pathogen associated molecular patterns), które wchodzą w skład pierwszej linii odporności wrodzonej, do tego typu receptorów należą m.in. TLR (toll like receptors). chTLR 21 jest odpowiedzialny za rozpoznawanie niemetylowanych oligonukleotydy bakteryjnego DNA (bdDNA) u drobiu. Syntetyczne, niemetylowane CpG oligodeoksy nukleotydy (ODNs) mogą imitować immunostymulującą aktywność bakteryjnego DNA i modulować odpowiedź immunologiczną różnych komórek [2].

**Cel badań:** Określenie wpływu ODN CpG podanych w dwóch różnych dawkach na procentowy udział komórek B i T w narządach limfatycznych u kurcząt.

**Materiał i metody:** 6-dniowe kurczęta Hubbard Flex zostały podzielone na 4 grupy doświadczalne: 1. – ptaki otrzymujące CpG ODN<sup>2007</sup> w dawce 25 µg/ptaka podskórnie, 2. – otrzymująca CpG ODN<sup>2007</sup> w dawce 50 µg/ptaka podskórnie, 3. – otrzymująca NON ODN CpG w dawce 50 µg/ptaka podskórnie, 4. – otrzymująca ekwiwalent PBS podskórnie. Narządy limfatyczne (bursa Fabrycjusza, grasicca, śledziona) do badań immunocytochemicznych zostały pobrane 24 i 72 godziny po iniekcji.

**Wyniki i omówienie:** Największe zmiany zaobserwowano w przypadku tymocytów, niezależnie od zastosowanej dawki. Wykazano istotny statystycznie wzrost procentowy odsetka komórek CD4<sup>+</sup> w grasicy 24 h p.i. oraz komórek CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup> TCRγδ<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> i CD4<sup>+</sup> 72 h p.i. Wzrost odsetka procentowego szczególnie komórek CD8<sup>+</sup> (cytotoksycznych) oraz limfocytów ekspresjonujących receptor TCRγδ<sup>+</sup> może mieć duże znaczenie w zwalczaniu infekcji na tle bakteryjnym. Jak wynika z najnowszych doniesień [1], komórki TCRγδ<sup>+</sup> u ptaków odgrywają dużą rolę w zwalczaniu infekcji *Salmonella*. Jednakże potrzebne są dalsze badania pozwalające określić mechanizm oraz skuteczność działania ODN CpG.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Pieper J., Methner U., Berndt A., 2011. Characterization of avian γδ T-cell subsets after *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection of chicks. *Infect Immun.* 79, 822–829.
- [2] Sparwasser T., Koch E., Vabulas R., Heeg K., Lipford G., Ellwart J., Wagner H., 1998. Bacterial DNA and immunostimulatory CpG oligonucleotides trigger maturation and activation of murine dendritic cells. *Eur. J. Immunol.*, 28, 2045–2054.

Badania współfinansowane przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.



## WPŁYW WYBRANYCH CHEMIOTERAPEUTYKÓW PRZECIWBAKTERYJNYCH NA POZIOM IGY W WORECZKU ŻÓŁTKOWYM ORAZ SUROWICY PISKŁĄT

### THE INFLUENCE OF ANTIBIOTICS ON MATERNAL ANTIBODY IN CHICKS

**Klaudia Chrząstek, Maciej Kuczkowski, Alina Wieliczko**

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, klaudia.chrzastek@up.wroc.pl*

U ptaków transfer przeciwciał matczynych zachodzi w dwóch etapach. Najpierw wysokie stężenie przeciwciał w surowicy krwi noski tworzy gradient umożliwiający jednokierunkowe przemieszczanie IgY, na zasadzie endocytozy/transcytozy. Z kolei, przy udziale receptorów dla fragmentów stałych immunoglobulin FcRY, przeciwciała są wychwytywane i przemieszczane do krwiobiegu rozwijającego zarodka. Wychwytywanie przeciwciał przy użyciu receptora FcRn jest zależne od pH środowiska. Przeciwciała połączone za pomocą fragmentów stałych z receptorem FcRY ulegają transcytozie, natomiast immunoglobuliny niezłączone wchodzi w lizosomalną drogę rozkładu [1, 2].

**Cel badań:** Poznanie wpływu wybranych chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych: enrofloksacyny, florfenikolu, ceftiofuru na resorpcję przeciwciał matczynych z woreczka żółtkowego kurcząt z jednoczesnym monitorowaniem poziomu przeciwciał w surowicy krwi piskląt.

**Materiał i metody:** Badania wykonano u 1-dniowych kurcząt Hubbard Flex. Ptaki zostały podzielone na cztery grupy doświadczalne: otrzymujące enrofloksacynę (10,0 mg/kg m.c.), florfenikol (30 mg/kg m.c.) począwszy od 1. dnia życia, przez 5 kolejnych dni; ceftiofur (2,0 mg/kg m.c.), jednorazowo w formie iniekcji oraz kontrolne (otrzymujące ekwiwalent wody do picia). Codziennie (w 2., 3., 4., 5. dniu doświadczenia) z każdej grupy (n=7) kurczęta zostały poddane eutanazji, a krew pobrana do analiz. W przypadku woreczka żółtkowego pobieranie prób, w związku z jego naturalną resorpcją, trwało do 3. dnia eksperymentu. Surowica oraz treść woreczka żółtkowego posłużyła do badań pozwalających określić stężenie przeciwciał IgY. Stężenie immunoglobulin oznaczano w teście immunodifuzyji radialnej. Odczytywano wielkość pierścienia precypitacyjnego i obliczano pole powierzchni. Stężenie immunoglobulin oznaczano na podstawie porównania z krzywą standardową, utworzoną z IgY o stężeniu 1, 2 i 4 mg/ml.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach wykazano, że w 24. dobie po podaniu ceftiofuru i florfenikolu poziom IgY w surowicy jest wyższy niż w grupie kontrolnej, podczas gdy po podaniu enrofloksacyny jest niższy w porównaniu z grupami otrzymującymi florfenikol i ceftiofur. W przypadku woreczka żółtkowego wykazano, że w drugim dniu podawania enrofloksacyny poziom IgY jest wyższy w porównaniu ze wszystkimi grupami doświadczalnymi. Przeprowadzone badania, mimo że wykazały istotne statystycznie różnice w poziomach IgY podczas terapii antybiotykowej, to jednak nie wpłynęły na efekt końcowy. Poziom przeciwciał po zakończeniu podawania chemioterapeutyków był jednakowy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] West A. P., Herr A. B., Bjorkman P.J., 2004. The chicken yolk sac IgY receptor, a functional equivalent of the mammalian MHC-related Fc receptor, is a phospholipase A2 receptor homolog. *Immunity*, 20, 601–610.
- [2] East L., Isacke, C. M., 2002. The mannose receptor family. *Biochim. Biophys. Acta*, 1572, 364–386.

*Badania wykonane w ramach projektu nr NN308594538 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.*





## OPRACOWANIE PARAMETRÓW DO OCENY ZDROWIA GOŁĘBI POCZTOWYCH I OZDOBNYCH PRZEZNACZONYCH DO WYKORZYSTANIA W BADANIACH EKSPERYMENTALNYCH

### SETTING THE PARAMETERS TO EVALUATION THE HEALTH STATUS OF RACING AND SHOW PIGEONS, WHICH ARE PLANED TO USE IN EXPERIMENTAL RESEARCH

Beata Dolka, Piotr Szeleszczuk

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa, e-mail: beata\_dolka@sggw.pl

Prowadzenie badań eksperymentalnych z użyciem gołębi wymaga szczegółowej oceny ich stanu zdrowotnego przed rozpoczęciem właściwej części doświadczalnej, bowiem nie są dostępne gołębie SPF (Specific Pathogen Free). Pod względem biologicznym gołębie są bardzo odpornymi ptakami. Często mimo dobrej kondycji i braku objawów klinicznych od ptaków tych izoluje się wiele czynników patogennych, które w sprzyjających okolicznościach (stres, immunosupresja) mogą być przyczyną uaktywnienia zakażenia, co może wpływać na ocenę wyników prowadzonego eksperymentu.

**Celem pracy:** Opracowanie panelu parametrów badań klinicznych i laboratoryjnych przydatnych do oceny stanu zdrowia gołębi pocztowych i ozdobnych, które mają być użyte do doświadczeń biologicznych.

**Materiał i metody:** Materiał stanowiły gołębie pocztowe (n=32) i ozdobne (n=45), pochodzące z różnych hodowli; w wieku ok. 1 roku. Przeprowadzono badania kliniczne (temp., masa ciała, spożyta karma i woda), badanie w kierunku trichomonozы, badanie bakteriologiczne i mykologiczne wymazów z wola i kloaki, badanie koproscopowe, badanie krwi (morfologia i biochemia), technikę PCR zastosowano w celu stwierdzenia materiału genetycznego wirusa grypy ptaków podtypu H5 (AIV/H5), ptasiego paramyksowirusa – serotypu 1 (APMV-1) i cirkowirusa (PiCV), badania serologiczne (AGID, ELISA, HI) w kierunku przeciwciał przeciwko AIV/H5 i APMV-1 (ELISA, HI). Gołębie utrzymywano w klatkach wystawowych (450 mm x 900 mm) zaopatrzonych w poidło i karmidło, w 10 godz. dniu świetlnym, w temp. 22–25°C, wilgotności 50–70%. Karmę i wodę podawano *ad libitum*.

**Wyniki i omówienie:** Gołębie nie wykazywały żadnych klinicznych objawów chorobowych. Średnia wartość temperatury ciała (mierzona w kloace) gołębi pocztowych wynosiła 41,8°C, ozdobnych 42,2°C. Średnia wartość masy ciała gołębi pocztowych wynosiła 469,8 g, a ozdobnych 295,8 g. Dobowe spożycie paszy przez gołębie pocztowe wynosiło 67,6 g, wody 38,6ml; przez ozdobne odpowiednio 22,1 g i 41,2 ml. Pomimo braku widocznych zmian typowych dla trichomonozы, stwierdzono inwazję rzęsistków u 40,6% gołębi pocztowych i 42,2% ozdobnych. Spośród gołębi pocztowych 50% i ozdobnych 55,6% nie miało oocyst kokcydii z rodzaju *Eimeria*. W obu przypadkach zastosowano stosowną terapię. U gołębi pocztowych stwierdzono wyższe wartości parametrów układu czerwonerwinkowego. W badaniach PCR wyniki dodatnie otrzymano tylko w kierunku PiCV, u gołębi pocztowych 12,5% i ozdobnych 37,8%. Uzyskano ujemne wyniki badań serologicznych w AGID dla AIV, HI dla AIV/H5 i APMV-1 (HI<1/16) oraz ELISA. Wyizolowane bakterie i grzyby z wymazów wchodziły w skład flory przewodu pokarmowego. Ogólny stan zdrowia i kondycję gołębi oceniono jako dobre. Uzyskane wyniki badań klinicznych znajdowały się w zakresie norm fizjologicznych podanych w piśmiennictwie [2]. Zastosowane parametry oceny pozwoliły na stwierdzenie, że ptaki te stanowią jednorodną (wyrównaną) grupę, co ma istotne znaczenie do zapewnienia powtarzalności wyników badań eksperymentalnych i ich wiarygodnej oceny. Przydatność tak opracowanej procedury została potwierdzona w badaniach własnych [1].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dolka B., 2011. Ocena odpowiedzi poszczepiennej u łabędzi niemych (*Cygnus olor*, Gm. 1789) i gołębi domowych (*Columba livia*, Gm.1789) immunizowanych przeciwko grypie ptaków szczepionkami inaktywowanymi. Praca dokt., SGGW.
- [2] Ritchie B. et al., 1994. Avian Medicine: Principles and application. Wingers Publishing, Lake Worth, Florida, USA

Praca naukowa współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego i Budżetu Państwa w ramach Zintegrowanego Programu Operacyjnego Rozwoju Regionalnego, Działania 2.6 „Regionalne Strategie Innowacyjne i transfer wiedzy” projektu własnego Województwa Mazowieckiego „Mazowieckie Stypendium Doktoranckie”.



## CHARAKTERYSTYKA SZCZEPU *ENTEROCOCCUS CECORUM* WYIZOLOWANEGO Z PIERWSZEGO PRZYPADKU ENTEROKOKOWEJ CHOROBY ZWYRODNIENIOWEJ STAWÓW KRĘGOSŁUPA U KURCZĄT BROJLERÓW W POLSCE

### CHARACTERISTIC SETTING *ENTEROCOCCUS CECORUM* STRAIN ISOLATED FROM THE FIRST CASE OF ENTEROCOCCAL VERTEBRAL OSTEOARTHRITIS IN BROILERS IN POLAND

Beata Dolka, Piotr Szeleszczuk

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa, e-mail: beata\_dolka@sggw.pl

*Enterococcus cecorum* należy do Gram-dodatnich bakterii z rodzaju *Enterococcus*, rodziny *Enterococcaceae*. Gatunek ten podobnie jak inne enterokoki jest składnikiem fizjologicznej (saprofitycznej) flory bakteryjnej przewodu pokarmowego ptaków i ssaków. Do niedawna bardzo rzadko diagnozowano kliniczny przebieg zakażenia *E. cecorum* u drobiu. W ostatnich latach obserwuje się wzrost znaczenia tego gatunku w patologii ptaków gospodarskich. Według najnowszych badań *E. cecorum* jest czynnikiem etiologicznym enterokokowej choroby zwyrodnieniowej stawów kręgosłupa u kur (Enterococcal Vertebral Osteoarthritis – EVOA), będącej przyczyną wzrastających strat w produkcji drobiarskiej.

**Cel pracy:** Przedstawienie charakterystyki szczepu *E. cecorum* wyizolowanego z pierwszego przypadku EVOA w stadzie kurcząt brojlerów w Polsce.

**Materiał i metody:** Do Zakładu Chorób Ptaków SGGW dostarczono brojlery kurze w wieku ok. 7 tyg. z zaburzeniami w poruszaniu. Wskazaniem do szczegółowych badań bakteriologicznych były charakterystyczne zmiany w obrębie wolnego kręgu piersiowego. Materiał stanowiły próbki pobrane z ropnia i martwicy znajdujących się w tym miejscu. W celu izolacji *E. cecorum* hodowlę prowadzono na agarze z krwią (Columbia blood agar) oraz na podłożach wybiórczych CNA, DCO, KAA (bioMérieux). Podłoża inkubowano w 37°C przez 48 godz. w atmosferze 5% CO<sub>2</sub>. Identyfikację bakterii wykonano opierając się na ustaleniu morfologii kolonii, morfologii komórek w preparacie mikroskopowym barwionym metodą Grama oraz po określeniu cech biochemicznych (API Rapid ID32 STREP, bioMérieux). Ocenę antybiotykowrażliwości szczepu przeprowadzono metodą krążkowo-dyfuzyjną. Przeprowadzono badanie techniką PCR w celu wykrycia i potwierdzenia obecności materiału genetycznego *Enterococcus sp.* i *E. cecorum*. Otrzymany produkt PCR został poddany sekwencjonowaniu, jej rezultat porównano z sekwencjami izolatów *E. cecorum* zdeponowanymi w banku genów GeneBank (NCBI).

**Wyniki i omówienie:** Z uszkodzeń w obrębie kręgów odcinka piersiowego kręgosłupa wyizolowano drobnoustroje, które w badaniu bakteriologicznym i molekularnym zidentyfikowano jako *Enterococcus cecorum*. Na agarze z krwią otrzymano szarawo-przezroczyste, okrągłe, drobne (Ø ok. 1mm), maziste kolonie o regularnym brzegu i gładkiej powierzchni, α-hemolityczne. Na podłożu selektywnym otrzymano czarny strąk wokół kolonii potwierdzający zdolność enterokoków do hydrolizy eskuliny. Wykazano, że są to katalazoujemne, G+, ziarniaki, układające się w pary, małe grupy lub krótkie łańcuszki. Za pomocą API (kod 6717 4607 131), stwierdzono, że wyizolowany szczep *E. cecorum* wytwarza m.in. β-glukozydazę (βGLU), β-glukuronidazę (βGUR), ma zdolność fermentacji rybozy (RIB), sacharozy (SAC), maltozy (MAL), melibiozy (MEL), nie wytwarza dihydrolazy argininy (ADH), pyrrolidinyloaryamidazy (PyrA), nie fermentuje L-arabinozy (LARA), glikogenu (GLYG), nie hydrolizuje hipuranu (HIP). Uzyskano wrażliwość na amoksycylinę i amoksycylinę z kwasem klawulanowym, oporność m.in. na tetracyklinę i norfloksacynę. W badaniu techniką PCR otrzymano wynik dodatni dla rodzaju i gatunku. Analiza sekwencji produktu PCR *E. cecorum* wykazała wysokie (99–100%) podobieństwo w porównaniu z dostępnymi sekwencjami w banku genów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Makrai L. et al., 2011. Association of *Enterococcus cecorum* with vertebral osteomyelitis and spondylolithesis in broiler parent chicks. Acta Vet. Hung., 59, 11–21.
- [2] Manero A. et al., 1999. Identification of *Enterococcus* spp. with a Biochemical Key. Appl Environ Microbiol., 65 (10), 4425–4430.



## WYSTĘPOWANIE ENTEROWIRUSÓW W KRAJOWYCH STADACH KUR I INDYKÓW PREVALENCE OF ENTERIC VIRUSES IN POLISH TURKEYS AND CHICKENS

Katarzyna Domańska-Blicharz, Anna Lisowska, Anna Jacukowicz, Anna Pikuła, Zenon Minta

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Drobiu,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: domanska@piwet.pulawy.pl

Stany patologiczne układu pokarmowego (enteropatie) stanowią istotny problem w hodowli drobiu i powodują duże straty ekonomiczne. Charakterystycznymi objawami enteropatii są biegunka, osowienie, zahamowanie przyrostów masy ciała, gorsze wykorzystanie paszy. Czasami dochodzi do dysfunkcji układu immunologicznego oraz podwyższonej śmiertelności. Enteropatie opisywane są pod różnymi nazwami, u kurcząt: syndrom zahamowania wzrostu (RSS – runting stunting syndrom) lub syndrom złego wchłaniania (MAS – malabsorption syndrom), natomiast u indyków: zespół zapalenia jelit indycząt (PEC – poult enteritis complex) oraz syndrom śmiertelności na tle zapalenia jelit indycząt (PEMS – poult enteritis mortality syndrome). Obok czynników niezakaźnych (pasza, warunki chowu) coraz większe znaczenie w etiopatogenezie enteropatii przypisuje się czynnikom zakaźnym, w tym wirusom [1, 2].

**Cel pracy:** Określenie występowania astrowirusów, parwowirusów, rotawirusów i koronawirusów w krajowych stadach kur i indyków.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowił świeży kał indyków i kurcząt rzeźnych oraz kur niosek, pobierany w ilości 10 próbek/stado. Próbkę po wstępnym przygotowaniu pulowano po 5 szt. w 2 próbki zbiorcze, z których następnie izolowano materiał genetyczny (RNA i DNA). Badania w kierunku astrowirusów, parwowirusów, rotawirusów i koronawirusów przeprowadzono metodami molekularnymi (jednoprobowkowy, konwencjonalny i real time RT-PCR oraz konwencjonalny PCR) wykrywającymi wysoce konserwatywny region UTR3 genomu koronawirusów, gen polimerazy astrowirusów, gen niestrukturalny NSP4 rotawirusów oraz gen NS1 parwowirusów.

**Wyniki i omówienie:** Łącznie przebadano 220 stad indyków (styczeń 2008 – maj 2012) oraz 69 stad kur i kurcząt (czerwiec 2011 – maj 2012), z których dotychczas tylko część przebadano. Ptaki w stadach, w których pobierano próbki, były w dobrej kondycji zdrowotnej lub wykazywały objawy chorobowe charakterystyczne dla enteropatii. Spośród przebadanych 220 stad indyków astrowirusowe RNA wykrywano w 98 (44,5%) stadach, natomiast sekwencje nukleotydowe charakterystyczne dla koronawirusów w 20 (9%) stadach. Z kolei obecność genomu rotawirusów i parwowirusów zidentyfikowano odpowiednio w 46 (20,9%) i 64 (29%) stadach. Na przebadanych łącznie 69 stad kurcząt i kur w 23 (33%) stadach zidentyfikowano obecność parwowirusów. Badaniom w kierunku rotawirusów poddano dotąd 32 stada i w 6 (18,7%) stwierdzono jego obecność, a na 39 stad przeanalizowanych pod kątem obecności astrowirusów zaledwie 2 (5,1%) stada były pozytywne.

Dotychczas uzyskane wyniki sugerują, że u indyków najpowszechniejszymi spośród wirusów odpowiedzialnych za enteropatie są zakażenia astrowirusami (44,5%), w mniejszym stopniu parwowirusami (29%) oraz rotawirusami (20,8%), natomiast zakażenia koronawirusami są sporadyczne (9%). Z kolei u kurcząt i kur najczęściej identyfikowane były parwowirusy (33%) oraz rotawirusy (18,7%), natomiast zakażenia astrowirusami były wykrywane incydentalnie.

### Piśmiennictwo:

- [1] Pantin-Jackwood M.J., Day J.M., Jackwood M.W., Spackman E., 2008. Enteric viruses detected by molecular methods in commercial chicken and turkey flocks in the United States between 2005 and 2006. *Avian. Dis.*, 52, 235–244.
- [2] Jindal N., Patnayak D.P., Chander Y., Zieglerr A.F., Goyal S.M., 2010. Detection and molecular characterisation of enteric viruses in breeder turkeys. *Avian. Pathol.*, 39, 53–61.

Badania wykonane w ramach projektu nr N308 57804 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.



## WYSTĘPOWANIE WARIANTU D1466-LIKE WIRUSA ZAKAŻNEGO ZAPALENIA OSKRZELI U KUR W POLSCE

### OCCURRENCE OF D1466-LIKE VARIANT OF INFECTIOUS BRONCHITIS VIRUS IN POLAND

Katarzyna Domańska-Blicharz, Anna Lisowska, Zenon Minta

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Drobiu,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: domanska@piwet.pulawy.pl

Wariant wirusa zakaźnego zapalenia oskrzeli (IBV) zwany D1466 (inna nazwa D212) po raz pierwszy został zdiagnozowany w Holandii pod koniec lat 70. ubiegłego wieku jako czynnik etiologiczny zaburzeń nieśności u kur niosek. Dokładniejsze badania wykazały, że wirusy te są znacząco odmienne od innych znanych europejskich typów (sero/genotypów) IBV, natomiast zbliżone do północnoamerykańskich szczepów DE072 i GA98 [1]. Przez ponad 40 lat od wykrycia nie wiązano wariantu D1466 z większymi problemami zdrowia drobiu, jednak wyniki monitoringu molekularnego przeprowadzonego w latach 2005–2006 w krajach Europy Zachodniej wskazywały na wzrost odsetka zakażeń wywołanych przez ten IBV [2].

W pracy opisano pierwsze przypadki IB wywołane przez wirusy należące do genotypu D1466-like oraz wstępną charakterystykę molekularną wykrytych IBV.

**Materiał i metody:** W listopadzie 2011 r. do Zakładu Chorób Drobiu PIWet-PIB dostarczono 10 żywych 30-tyg. niosek towarowych. U ptaków obserwowano osowienie, opóźnienie w rozwoju (słabo rozwinięte drugorzędowe cechy płciowe) i nieśności, a przede wszystkim obniżoną nieśność osiągającą 62–65% przewidywanego poziomu. Sekcyjnie wykazano znacznego stopnia niedorozwój układu rozrodczego (6/10 szt.), obecność pojedynczych torbieli na jajowodach (2/10 szt.) oraz bladłość i kruchość nerek (1/10 szt.). Do badań laboratoryjnych pobrano płuca i tchawicę, jelita, nerki oraz zmienione jajowody. Obecność genu wirusa IBV wykrywano metodą real time RT-PCR. Próbkę dodatkowo sprawdzano w reakcjach RT-PCR: 1) ukierunkowanej na wykrycie IB typu QX, 793B, Mass, It-02 itp., 2) typu D1466. Otrzymane produkty poddawano sekwencjonowaniu. W następnych miesiącach otrzymano próbki (tkanki, narządy, wymazy kałowe) ze stad kur niosek zarówno towarowych, jak i reprodukcyjnych oraz kurcząt bojlerów z podejrzeniem IB, które badano jw.

**Wyniki i omówienie:** W próbkach jelit i nerek wykryto genom IBV należący do typu D1466 oraz 793B (jelita). Do maja 2012 r. przebadano łącznie 53 stada kur, z czego w 18 (34%) przypadkach stwierdzono genotyp D1466 (14 stad kur niosek i 4 stada kurcząt brojlerów). U zakażonych ptaków obserwowano różnego stopnia zaburzenia nieśności, pogorszenie jakości jaj, biegunkę, a także objawy ze strony układu oddechowego. Sekcyjnie oprócz anomalii w rozwoju jajników i jajowodów często stwierdzano zmiany w nerkach. Do tychczas, produkty RT-PCR pochodzące z 6 przypadków poddano sekwencjonowaniu i analizie filogenetycznej. Wszystkie polskie sekwencje wykazywały największą homologię do holenderskich szczepów D1466 oraz V1397. Homologia między polskimi szczepami wynosiła 86,2–99,5%: trzy z sześciu analizowanych sekwencji były w 99,5% podobne i tworzyły podgrupę I, natomiast trzy kolejne (homologia 90,1–96,1%) podgrupę II. Podobieństwo wirusów z podgrupy I i II do szczepu D1466 wynosiło 99,0–99,5 i 86,8–91,7%, natomiast do szczepu V1397 odpowiednio: 93,8–94,3 i 90,9–93,8%. Z kolei podobieństwo do północnoamerykańskich szczepów DE072 i GA98 wynosiło 67,8–79,3%.

Wyniki badań wskazują na kolejną w kraju epidemię zakaźnego zapalenia oskrzeli powodowaną przez odmienny molekularnie wariant D 1466-like IBV, który przełamuje odporność nabytą po obecnie stosowanych szczepionkach i programach.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kusters J.G., Niesters H.G., Bleumink-Pluym N.M., Davelaar F.G., Horzinek M.C., Van Der Zeijst B.A., 1987. Molecular epidemiology of infectious bronchitis virus in the Netherlands. *J. Gen. Virol.*, 68 (Pt 2), 343–352.
- [2] Worthington K.J., Currie, R.J., Jones R.C., 2008. A reverse transcriptase polymerase chain reaction survey of infectious bronchitis virus genotypes in Western Europe from 2002 to 2006 *Avian. Pathol.*, 37, 247–257.





## PRZYPADEK PĘKNIĘCIA SERCA U GŁUSZCA ZWYCZAJNEGO (*TETRAO UROGALLUS*)

### THE CASE OF HEART RUPTURE IN CAPERCAILLIE (*TETRAO UROGALLUS*)

Sylwia Doner<sup>1</sup>, Izabella Dolka<sup>1</sup>, Karolina Barszcz<sup>2</sup>, Aleksandra Ledwoń<sup>1</sup>,  
Piotr Szeleszczuk<sup>1</sup>, Marek Keller<sup>3</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, e-mail: sylwia.doner@gmail.com, <sup>2</sup>Katedra Nauk Morfologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, <sup>3</sup>Wydział Leśny, Katedra Ochrony Lasu i Ekologii, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Głuszczyk zwyczajny (*Tetrao urogallus*) jest ptakiem należącym do rodziny kurowatych (*Phasianidae*). W Polsce populacja tego gatunku ptaka stale maleje, dlatego też podejmuje się próby reintrodukcji głuszców odchowywanych w niewoli do środowiska naturalnego.

**Cel pracy:** Opisanie przypadków klinicznych pęknięcia serca u głuszczyka zwyczajnego. W dostępnym piśmiennictwie opisano zaledwie dwa przypadki pęknięcia serca u tego gatunku.

**Materiał i metody:** Do Zakładu Chorób Ptaków dostarczono zwłoki 3 samic oraz 1 samca głuszczyków pochodzących z hodowli mającej na celu wprowadzenie nowych osobników do środowiska naturalnego. Reintrodukcję głuszczyka zwyczajnego (*Tetrao urogallus*) przeprowadza się w tym stadzie, wykorzystując nowatorską metodę nazywaną „born to free”, która polega na odchowie ptaków w środowisku naturalnym już od okresu pisklęcego. Wykonano sekcję wszystkich dostarczonych osobników. Dodatkowo u 3 z nich przeprowadzono szczegółową morfometrię serca. Od jednego ptaka pobrano wycinki narządów takich jak mięsień sercowy, płuco, wątroba, śledziona oraz nerka do badania histopatologicznego.

**Wyniki i omówienie:** Badanie sekcyjne wszystkich ptaków wykazało obecność dużej ilości krwi w worku osierdziowym, co było spowodowane pęknięciem ściany mięśnia sercowego w okolicy koniuszka serca. Długość oraz charakter pęknięcia były różne u każdego osobnika. W pozostałych narządach nie zaobserwowano żadnych zmian makroskopowych. W badaniu morfometrycznym serca wszystkich osobników uzyskano następujące wyniki: grubość ściany komory lewej (9,68–12,28 mm); grubość ściany komory prawej (4,–5,53 mm); grubość przegrody międzykomorowej (7,74–11,57 mm). Badanie histopatologiczne mięśnia sercowego wykazało cechy wskazujące na występowanie zwyrodnienia włókien mięśniowych. W pozostałych poddanych badaniu narządach wystąpiło przekrwienie, co było skutkiem zaburzeń występujących w układzie krążenia.

W opisanych w piśmiennictwie przypadkach sugeruje się, iż do pęknięcia serca doszło na skutek zadziałania czynnika stresogennego, co spowodowało gwałtowny wzrost ciśnienia krwi, wywierający zbyt duży opór na ścianę mięśnia sercowego. Niemniej jednak pierwotna przyczyna nie została wyjaśniona.

Opisane zmiany w obrazie histopatologicznym badanego ptaka mogą sugerować kardiomiopatię na tle stresowym lub żywieniowym.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Sato Y., Aoyagi T., Miyano N., 2000. An occurrence of cardiac rupture in a capercaillie (*Tetrao urogallus*) probably induced by myocardial infarction. *Avian Diseases*, 44, 231–233.
- [2] Domingo M., Marco-Sanchez I., Marco-Valle A.J., 1991. Heart rupture and haemopericardium in capercaillie (*Tetrao urogallus*) reared in captivity. *Avian Pathology*, 20, 363–366.





## WPŁYW DODATKU PASZOWEGO ZAWIERAJĄCEGO CYNK (II) METODĄ BIOSORPCJI ORAZ CYNKU (II) W POSTACI CHELATU NA WYBRANE PARAMETRY FERMENTACJI W JELICIE ŚLEPYM KUR NIOSEK (LOHMAN BROWN)

### EFFECT OF DIETARY ZINC (II) CHELATE AND ZINC (II) ENRICHED SOYBEAN MEAL ON SELECTED PARAMETERS OF IN VITRO CAECAL FERMENTATION OF LAYING HENS (LOHMAN BROWN)

Maciej Janeczek<sup>1</sup>, Katarzyna Chojnacka<sup>3</sup>, Ewa Pecka<sup>1</sup>, Albert Czerski<sup>1</sup>, Zuzanna Witkowska<sup>2</sup>, Aleksander Chrószcz<sup>1</sup>, Wojciech Zawadzki<sup>1</sup>, Sebastian Opaliński<sup>3</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <sup>1</sup>Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, ul. Koźuchowska 1/3, 51-631 Wrocław, e-mail: janeczekm@poczta.onet.pl, <sup>2</sup>Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38c, 51-630 Wrocław

<sup>3</sup>Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów, ul. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław

Biosorpcja jest procesem, który umożliwia wytwarzanie dodatków paszowych cechujących się wysoką biodostępnością zawartych w nich mikroelementów [1].

**Cel badań:** Porównanie wpływu dodatku paszowego uzyskanego drogą biosorpcji z chelatem na wybrane parametry fermentacji w jelicie ślepym kur niosek.

**Materiał i metody:** Śrutę sojową wzbogacono w jony Zn (II) na drodze biosorpcji, wykorzystując sól nieorganiczną ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ). Biosorpcję przeprowadzono, wykorzystując reaktor kolumnowy. Proces biosorpcji prowadzono w temperaturze 20°C do wysycenia złoża, kontrolując stężenie roztworu wychodzącego z kolumny. Wzbogaconą biomasę suszono na powietrzu przez 48 godzin. Została wyodrębniona grupa kontrolna (K) oraz dwie grupy doświadczalne (I i II). W grupie pierwszej (I) badano wpływ cynku z preparatu uzyskanego metodą biosorpcji na procesy fermentacyjne, a w grupie drugiej (II) sprawdzono wpływ cynku z chelatu organicznego. Do kilograma paszy zostało dodane w grupie I – 4,259 g preparatu z Zn(II), i w grupie II – 0,375 g chelatu organicznego z cynkiem. Podczas sekcji pobrano jelito ślepe, z którego uzyskano treść pokarmową. Po wymieszaniu treść została rozdzielona po 5 g do buteleczek o pojemności 125 ml. Do każdej buteleczki dodany został odpowiedni bufor o pH = 7,3 w ilości 40 ml. Próby poddano inkubacji po dodaniu 1 g dodatku w temperaturze 39°C, a także 4- i 6-godzinnej fermentacji *in vitro*. Wykonano łącznie 36 prób po 6 z każdą mieszanką paszową.

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone badania wykazały, że stosowanie cynku w postaci chelatu organicznego oraz cynku wprowadzonego do paszy metodą biosorpcji nie wpływa negatywnie na produkty fermentacji jelita ślepego u kur. Biorąc pod uwagę poziom lotnych kwasów tłuszczowych będących produktem fermentacji, zaobserwowano korzystniejszy wpływ stosowanej paszy z dodatkiem cynku w postaci chelatu organicznego. Jednak stosowany cynk wprowadzony na drodze biosorpcji spowodował niższy poziom produkcji wodoru i metanu, co w konsekwencji może wpłynąć na ograniczenie strat energetycznych przez zwierzęta. Ze względu na dobrą akumulację cynku podczas procesów technologicznych w paszach otrzymane związki (biosorbenty) oraz chelat cynku mogą być stosowane jako alternatywne źródło tego mikroelementu.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Chojnacka K., 2007. Using biosorption to enrich the biomass of *Chlorella vulgaris* with microelements to be used as mineral feed supplement. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 23, 1139–1147.

Projekt realizowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach grantu badawczego N N209 068140.



## WPŁYW DODATKÓW PASZOWYCH WZBOGACONYCH METODĄ BIOSORPCJI W $\text{Cu}^{++}$ , $\text{Fe}^{++}$ I $\text{Cr}^{+++}$ NA WYBRANE PARAMETRY FERMENTACJI W JELICIE ŚLEPYCH W WAUNKACH *IN VITRO* U KUR NIOSEK (LOHMAN BROWN)

### EFFECT OF $\text{Cu}^{++}$ , $\text{Fe}^{++}$ AND $\text{Cr}^{+++}$ IN MINERAL ADDITIVES ENRICHED WITH BIOSORPTION PROCESS FORM ON CHOSEN PARAMETERS OF *IN VITRO* CAECAL FERMENTATION IN LAYING HENS (LOHMAN BROWN)

Maciej Janeczek<sup>1</sup>, Katarzyna Chojnacka<sup>3</sup>, Ewa Pecka<sup>1</sup>, Albert Czerski<sup>1</sup>, Zuzanna Witkowska<sup>2</sup>, Aleksander Chrószcz<sup>1</sup>, Wojciech Zawadzki<sup>1</sup>, Sebastian Opaliński<sup>3</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <sup>1</sup>Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, ul. Kozuchowska 1/3, 51-631 Wrocław, janeczekm@poczta.onet.pl, <sup>2</sup>Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38c, 51-630 Wrocław <sup>3</sup>Politechnika Wroclawska, Wydział Chemiczny, Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów, ul. Smoluchowskiego 25, 50-372 Wrocław,

Wstępne wyniki badań nad zastosowaniem dodatków paszowych uzyskanych metodą biosorpcji w żywieniu zwierząt są zachęcające, ale jak do tej pory nie określono ich wpływu na procesy fizjologiczne w przewodzie pokarmowym [1].

**Cel badań:** Określenie wpływu dodatku paszowego uzyskanego drogą biosorpcji na wybrane parametry fermentacji w jelicie ślepych kur niosek.

**Materiał i metody:** Śrutę sojową wzbogacono w jony mikroelementów ( $\text{Cu}(\text{II})$ ,  $\text{Fe}(\text{II})$ ,  $\text{Cr}(\text{III})$ ) na drodze biosorpcji, wykorzystując sole nieorganiczne dopuszczone przez prawodawstwo jako dodatki paszowe:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ . Biosorpcję przeprowadzono wykorzystując reaktor kolumnowy ze złożem o pojemności 0,1 dm<sup>3</sup>. Do procesu użyto wody demineralizowanej o pH 5,0 za pomocą 0,1 M NaOH/HCl. Odczyn wody kontrolowano pH-metrem Mettler-Toledo. Proces biosorpcji prowadzono w temperaturze 20°C do wysycenia złoża, kontrolując stężenie roztworu wychodzącego z kolumny. Wzbogaconą biomasę suszono na powietrzu przez 48 godzin. Podczas sekcji pobrano jelito ślepe, z którego uzyskano treść pokarmową. Po wymieszaniu treści pobranej od każdego zwierzęcia została ona rozdzielona po 5 g do buteleczek o pojemności 125 ml. Następnie do każdej buteleczki dodano odpowiedni bufor o pH= 7,3 w ilości 40 ml celem rozcieńczenia treści. Próby zostały poddane inkubacji po dodaniu do 1 g dodatku w temperaturze 39°C. W buteleczkach uzyskano warunki beztlenowe. Próby poddano 4- i 6-godzinnej fermentacji *in vitro*. Wykonano łącznie 48 prób po 6 z każdą mieszanką paszową w poszczególnych godzinach fermentacji. Analiza wytwarzanego wodoru i metanu została przeprowadzona z zastosowaniem chromatografu gazowego z detektorem TCD oraz FID. Próbkę płynnej treści poddano analizie przy użyciu chromatografu gazowego z detektorem FID celem oznaczenia w nich ogólnego stężenia LKT oraz udziału procentowego poszczególnych kwasów: octowego, propionowego, izomasłowego, masłowego, izowalerianowego i walerianowego.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach nie stwierdzono negatywnego wpływu wzbogaconych metodą biosorpcji dodatków paszowych na wybrane parametry. Poziom LKT kształtował się na wyższym poziomie niż w grupie kontrolnej. W grupach badawczych, z wyjątkiem grupy z dodatkiem miedzi, zaobserwowano wyższy poziom kwasu propionowego niż w grupie kontrolnej. Wydaje się, że procesy fermentacyjne w grupach badawczych były bardziej intensywne niż w grupie kontrolnej. Skutkiem tego był obserwowany spadek poziomu pH, mieszczący się jednak w zakresie przyjętej normy. Nie wykazano korelacji pomiędzy poziomami kwasu octowego, metanu i wodoru.

#### Pismienictwo:

- [1] Chojnacka K., 2007. Using biosorption to enrich the biomass of *Chlorella vulgaris* with microelements to be used as mineral feed supplement. World J. Microbiol. Biotechnol., 23, 1139–1147.

Projekt realizowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach grantu badawczego N N209 068140.



## MIESZANE ZAKAŻENIA WIRUSOWE W STADACH DROBIU W POLSCE

### THE MIXED VIRAL INFECTIONS IN POULTRY FLOCKS IN POLAND

Wojciech Kozdruń, Hanna Czekaj, Grzegorz Woźniakowski, Jowita Samanta Niczyporuk,  
Karolina Tarasiuk

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Wirusowych Drobiu,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: wkozdrun@piwet.pulawy.pl

Pomimo prowadzonej immunoprofilaktyki choroby wirusowe nadal stanowią bardzo duże zagrożenie dla wielkostadnej produkcji drobiarskiej. Wirusy je wywołujące mogą być nie tylko bezpośrednią przyczyną chorób, ale także mogą mieć wpływ immunosupresyjny, wikłając inne zakażenia, co niewątpliwie wpływa na ekonomikę produkcji, ale przede wszystkim na skuteczność zabiegów immunoprofilaktycznych.

**Cel pracy:** Analiza przypadków zakażeń wirusowych w stadach drobiu badanych w Zakładzie Chorób Wirusowych Drobiu w latach 2008–2011.

**Materiał i metody:** Do badań diagnostycznych do Zakładu Chorób Wirusowych Drobiu w latach 2008 – 2011 przesłano łącznie 1172 ptaki pochodzące ze 162 stad w wieku od 1 tyg. do 40 tyg. Ptaki te przesyłano do badań głównie w kierunku choroby Mareka. Od chorych ptaków pobierano wycinki narządów wewnętrznych (wątroba, śledziona, żołądek gruczołowy, migdałki jelit ślepych), z których izolowano całkowity, komórkowy DNA i RNA. Zakażenia wirusem choroby Mareka (MDV) wykrywano reakcją amplifikacji (PCR) przy zastosowaniu pary starterów dla sekwencji 132 bp wirusa choroby Mareka. Dodatkowo, także reakcją amplifikacji sprawdzano obecność innych zakażeń wirusowych, stosując następujące pary starterów: dla genu hexon adenowirusów (Adeno), dla genu NS reowirusa (Reo) oraz dla genu NS parwowirusa kurzego (ChPV). Produkty reakcji amplifikacji poddano rozdzielni elektroforetycznej w 1,5% żelu agarozowym, a następnie analizowano w świetle UV.

**Wyniki i omówienie:** W okresie 2008–2011 najczęściej badanych ptaków było rasy Lohmann Brown Hy – Line (28,57%), Ross 308 (28%) oraz Lohmann Brown (23,8%). Najczęściej badaniu poddawano ptaki w wieku 1–10 tyg. (31,4%) i 21–25 tyg. (16,6%). U 36% ptaków obserwowano wychudzenie oraz objawy nerwowe (11%) w postaci paraliżu nóg i szyi. Wśród zmian anatomopatologicznych stwierdzano głównie zmiany w śledzionie w postaci powiększenia (19,04%) z obecnością guzów martwiczych (14,28%) oraz analogiczne zmiany w wątrobie (odpowiednio 15,07% i 14,28%). Na podstawie wyników PCR zakażenie zjadliwym szczepem wirusa choroby Mareka stwierdzono w 26 stadach (16,04%). Dodatkowo, zakażenie szczepem adenowirusów wykryto w 119 stadach (73,45%), szczepem reowirusa w 18 stadach (11,1%), a szczepem parwowirusa w 15 stadach (9,25%). Przeprowadzona analiza mieszanych zakażeń wykazała podwójne zakażenie wirusem choroby Mareka i adenowirusami w 25 stadach (15,43%), wirusem choroby Mareka i reowirusem w 8 stadach (4,93%), natomiast wirusem choroby Mareka i parwowirusem kurzym w 10 stadach (6,17%).

#### Piśmiennictwo:

- [1] Carvallo F.R., French R.A., Gilbert K., Risati G., Dunn J.R., Forster F., Kupel M., Smith J.A., 2011. Mortality of one-week-old chickens during naturally occurring Marek's disease virus infection. *Veterinary Pathology*, 48:5, 993–998.
- [2] Rusvai M., 2011. Naturally occurring parvoviral infection in Hungarian broiler flocks. *Avian Pathology*, 40:2, 191–197.
- [3] Tran A., Berard A., Coombs K.M., 2009. Avian reoviruses – propagation, quantification and storage. *Current Protocols of Microbiology*, 15, Unit 15 C.2.



## PRZYPADKI PARWOWIROZY KACZKI PIŻMOWEJ W POLSCE THE CASES OF MUSCOVY DUCKS PARVOVIROSIS IN POLAND

Kozdruń Wojciech, Woźniakowski Grzegorz, Czekał Hanna

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Wirusowych Drobiu,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: wkozdrun@piwet.pulawy.pl

Parwoviroza kaczki piżmowej wystąpiła po raz pierwszy na początku lat 90. ubiegłego stulecia we Francji i na Węgrzech. Od tamtej pory nazywa się to schorzenie syndromem MMDR – śmiertelność, zachorowalność, utrata upierzenia i pełzanie. Choroba ta jest wywoływana przez parwovirus kaczki piżmowej (MDPV), różniący się antygenowo od parwovirusa gęsiego (GPV).

**Cel pracy:** Analiza przypadków zachorowań w stadach kaczek piżmowych w Polsce.

**Materiał i metody:** Do badań przesłano 15 kacząt piżmowych w wieku 5,5, i 4 tyg. z dwóch stad importowanych z Francji. Liczebność ptaków w stadach wynosiła odpowiednio 6480 i 9200 ptaków. U ptaków występowały trudności w poruszaniu się i braki w upierzeniu. Śmiertelność w obu stadach wynosiła 30–65%. U padłych ptaków stwierdzano obecność płynu w worku osierdziowym, powiększenie wątroby z obecnością zmian zwyrodnieniowych, zmętnienie i pogrubienie błon surowiczych oraz obrzęk nerek i skazę moczanową. Z pobranych od padłych ptaków wycinków narządów wewnętrznych (wątroba, serce, nerki, jelita) izolowano całkowity, komórkowy DNA. Startery do PCR opracowano na podstawie sekwencji regionu genomu szczepu FM MDPV o numerze U22967 (Gene Bank) kodującego białko strukturalne VP3. Warunki PCR były następujące: wstępna aktywacja 95°C – 5 min, następnie 35 cykli programu: denaturacja właściwa 94°C – 1 min, przyłączanie starterów 60,2°C – 1 min, wydłużanie produktów 72°C – 1 min, końcowe wydłużanie produktów 72°C – 10 min. Celem wykluczenia zakażenia parwovirusem gęsim przeprowadzono PCR ze starterami charakterystycznymi dla GPV. Produkty reakcji amplifikacji poddano rozdzielaniu elektroforetycznemu w 1,5% żelu agarozowym. Uzyskane produkty PCR poddano sekwencjonowaniu, a następnie analizie filogenetycznej poprzez porównanie otrzymanych sekwencji z sekwencjami dostępnymi w bazach danych.

**Wyniki i omówienie:** W wyniku przeprowadzonej reakcji amplifikacji otrzymano produkt PCR o wielkości 1608 bp świadczący o obecności w badanych narządach wewnętrznych kacząt materiału genetycznego parwovirusa kaczki piżmowej. Nie uzyskano produktu PCR o wielkości 806 bp charakterystycznego dla parwovirusa gęsiego. Przeprowadzona analiza filogenetyczna wykazała 100% podobieństwa otrzymanych sekwencji nukleotydowych do sekwencji parwovirusa kaczki piżmowej dostępnych w bazach danych. Podobne badania przeprowadzono w USA, gdzie w latach 1997–1999 stwierdzono kilka przypadków parwovirozy w stadach kaczek w wieku powyżej 5 tygodnia życia. Obserwowane objawy kliniczne i zmiany anatomopatologiczne były identyczne jak u kacząt w Polsce. Śmiertelność wynosiła 10–40%, a procent podobieństwa szczepów wynosił 99% [1, 2].

### Piśmiennictwo:

- [1] Poonia B., Dunn P.A., Lu H., Jarosiński K.W., Schat K.A., 2006. Isolation and molecular characterization a new muscovy duck parvovirus from muscovy ducks in the USA. *Avian Pathology*, 35:6, 435–441.
- [2] Zwingelstein F., Arnould C., McFarland M.D., Pedersen J.C., 2000. Evidence of muscovy ducks parvovirus in muscovy ducklings in Kalifornia. *Veterinary Record*, 142:3, 68–72.



CHARAKTERYSTYKA SZCZEPÓW *ESCHERICHIA COLI* IZOLOWANYCH OD KACZEK I GĘSITHE CHARACTERISATION OF *ESCHERICHIA COLI* STRAINS ISOLATED FROM DUCKS AND GEESE

Kuczkowski Maciej, Krawiec Marta, Wieliczko Alina

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: maciej.kuczkowski@up.wroc.pl; marta.krawiec@up.wroc.pl

*Escherichia coli* (*E. coli*) to szeroko rozpowszechnione bakterie, wchodzące w skład naturalnej flory bakteryjnej jelit zwierząt i ludzi oraz występujące w postaci jelitowych lub pozajelitowych patogenów. Patotyp APEC (Avian Pathogenic *Escherichia coli*) wywołuje u ptaków kolibakteriozę – istotną zakaźną chorobę drobiu, będącą przyczyną dużych strat w produkcji drobiarskiej. Z kolei objawy kliniczne kolibakteriozy ptaków dzikich są rzadko opisywane. W Polsce brak gruntownych badań nad mechanizmami wirulencji szczepów izolowanych od dzikich ptaków.

**Cel pracy:** Porównanie częstotliwości występowania wybranych genów wirulencji oraz określenie MIC (minimal inhibitory concentration) na wybrane chemioterapeutyki u 27 szczepów *E. coli* pochodzących z przypadków klinicznej kolibakteriozy od hodowlanych gęsi i kaczek typu Pekin stad reprodukcyjnych i tuczowych oraz u 24 szczepów *E. coli* wyizolowanych od kaczki krzyżówki (*Anas platyrhynchos*).

**Materiał i metody:** Szczepy *E. coli* izolowano z narządów wewnętrznych (wątroba, jelita), które posiewano na podłoże McConkey'a, (Merck, Niemcy) i inkubowano 18 godzin w temp. 37°C. Pojedyncze charakterystyczne, laktozodatnie kolonie reizolowano na podłoże agar odżywczy (Merck, Niemcy), a następnie zabezpieczano do dalszych badań w Microbanku (Pro-lab, Kanada) w temp. -70°C. DNA do reakcji multiplex PCR izolowano z 24-godzinnej bulionowej hodowli przy pomocy zestawu GenElute (Sigma-Aldrich, USA) zgodnie z zaleceniami producenta. Na podstawie obecności w bakteryjnym genomie genów *chuA* i *yjaA* oraz charakterystycznego fragmentu DNA TSPE4.C2 określono przynależność do grup filogenetycznych A, B1, B2 i D [1]. Z użyciem primerów rozpoznających sekwencje flankujące fragmenty wybranych genów wirulencji: *cva A/B*, *cva cviC*, *iss*, *astA*, *irp2*, *papC*, *iucD*, i *tsh* określono ich częstotliwość występowania w genomie badanych szczepów [2]. Ponadto, dla wyizolowanych szczepów określono MIC dla amoksycyliny, tetracykliny oraz enrofloksacyny metodą Etest (BioMérieux, Francja) zgodnie z instrukcją producenta. Jako szczep referencyjnego użyto *E. coli* ATCC25922.

**Wyniki i omówienie:** U kaczek i gęsi hodowlanych dominowały szczepy należące do grup filogenetycznych D i B1 (odpowiednio 37,0 i 29,6%). U kaczki krzyżówki dominowały szczepy należące do grup A i D (po 20,8%), przy czym aż 8 (41,%) szczepów nie udało się sklasyfikować. U szczepów izolowanych od ptaków hodowlanych wykryto z różną częstotliwością wszystkie badane geny warunkujące zjadliwość. Najczęściej, bo u ponad 70% szczepów stwierdzano gen *iss* (warunkujący oporność na bakteriobójcze działanie surowicy). Z kolei szczepy izolowane od gatunku kaczki krzyżówki miały tylko geny *irp2* (odpowiedzialne za syntezę yersiniobaktyny) – 16,7%, *astA* (kodujący enterotoksynę EAST) – 12,5% i *iss* (4,2%). Istotne różnice zaobserwowano również w oznaczonych MIC. Ponad 85% szczepów od drobiu było opornych na amoksycylinę i tetracyklinę w porównaniu z odpowiednio 50,0 i 36,8% od ptaków z gatunku kaczka krzyżówka. Podobnie w przypadku enrofloksacyny szczepy izolowane od ptaków hodowlanych były oporne w 63%, a od dzikich zaledwie w 10,5%. W podobnych badaniach przeprowadzonych w Niemczech [3], wśród szczepów *E. coli* izolowanych od różnych gatunków dzikich ptaków, uzyskano podobny wysoki poziom oporności w stosunku do amoksycyliny (60%) oraz tetracykliny (46,7%), natomiast w stosunku do fluorochinolonów opornych było 13,3% szczepów.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Clermont O., 2000. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. Applied and Environmental Microbiology, 66, 4555–4558.
- [2] Ewers Ch. i wsp., 2005. Rapid detection of virulence-associated genes in avian pathogenic *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. Avian diseases., 49, 269–273.
- [3] Guenther S., Grobel M., Lübke-Becker A., Goedecke A., Friedrich N.D., Wieler L. H., Ewers C., 2010. Antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* from common European wild birds species., Veterinary Microbiology, 144, 219–225.

Badania wykonane w ramach projektów nr N N308 569239 i NR12 0126 10 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.





## LEKOOPORNE SZCZEPY *ESCHERICHIA COLI* IZOLOWANE OD KURCZĄT BROJLERÓW I INDYKÓW RZEŹNYCH

### ANTIMICROBIAL-RESISTANT *ESCHERICHIA COLI* STRAINS FROM CHICKEN AND TURKEY

Maciej Kuczkowski, Michał Bednarski, Marta Krawiec, Woźniak Anna, Alina Wieliczko

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: maciej.kuczkowski@up.wroc.pl; marta.krawiec@up.wroc.pl

Kolibakterioza ptaków jest wywoływana przez grupę patogenów noszących wspólną nazwę APEC – *Escherichia coli* patogennych dla ptaków. *E. coli* jest obecna w fizjologicznej florze jelitowej ptaków. Jedynie niektóre szczepy z kilku serotypów, posiadające specyficzne czynniki wirulencji, są zdolne do wywołania zakażeń pozajelitowych, które jest ważną przyczyną strat w produkcji drobiarskiej. Istotny problem dla zdrowia konsumenta jak i zwierząt stanowi również intensywna selekcja, jakiej poddane są szczepy *E. coli* przez chemioterapeutyki stosowane w produkcji drobiarskiej.

**Cel pracy:** Określenie minimalnych stężeń hamujących (MIC – minimal inhibitory concentration) dla wybranych chemioterapeutyków u 118 szczepów *E. coli* wyizolowanych z przypadków klinicznej kolibakteriozy od kurcząt brojlerów i indyków rzeźnych.

**Materiał i metody:** Szczepy *E. coli* izolowano w latach 2011–2012 (83 szczepy) oraz w 2001 (35 szczepów). W grupie izolatów z lat 2011–2012 od kurcząt brojlerów pochodziło 41 (w tym 18 od piskląt w wieku 1–3 dni i 23 od kurcząt w wieku 1–6 tygodni) i 44 od indyków rzeźnych (24 od indyków w wieku 1–3 dni i 20 od indyków w wieku 1–14 tygodni). Z kolei w grupie izolatów z 2001 roku 22 pochodziły od kurcząt rzeźnych a 13 od indyków. Narządy wewnętrzne (wątroba, płuca, serce) posiewano na podłoże McConkey'a (Merck, Niemcy) i inkubowano 18 godzin w temp. 37°C. Pojedyncze charakterystyczne, laktozododatnie kolonie reizolowano na podłoże agar odżywczy (Merck, Niemcy), a następnie zabezpieczano do dalszych badań w Microbanku (Pro-lab, Kanada) w temp. -70°C. Dla wyizolowanych szczepów określono MIC dla amoksycyliny (zakres 0,016–256 µg/ml), tetracykliny (zakres 0,016–256 µg/ml) oraz enrofloksacyny (zakres 0,002–32 µg/ml) metodą Etest (BioMerieux, Francja) na podłożu Mueller Hinton (bioMerieux, Francja) zgodnie z instrukcją producenta. Jako szczepu referencyjnego użyto *E. coli* ATCC 25922.

**Wyniki i omówienie:** Zakres MIC dla amoksycyliny u badanych *E. coli* zawierał się pomiędzy 0,125 a 256 µg/ml, a dla tetracykliny pomiędzy 0,75 a 256 µg/ml. W grupie szczepów izolowanych od kurcząt brojlerów z lat 2011/2012 przeważały szczepy odporne na te antybiotyki (71,8% w porównaniu z 45,5% szczepów opornych w grupie *E. coli* izolowanych od indyków). W podobnych badaniach przeprowadzanych w Irlandii w 2000 r. 62,5% izolatów pochodzących od indyków wykazywało oporność na tetracykliny [1]. Stwierdzono również różnice w MIC50 dla szczepów *E. coli* pochodzących od różnych grup wiekowych indyków. Dla szczepów izolowanych od piskląt MIC50 dla amoksycyliny wynosił 3 µg/ml, a dla ptaków starszych aż 256 µg/ml. Te same szczepy wykazywały również podobne różnice w MIC50 dla tetracykliny – dla szczepów od piskląt 8 µg/ml, a dla szczepów izolowanych od ptaków starszych aż 96 µg/ml. Zakres MIC dla enrofloksacyny zawierał się pomiędzy 0,047 a 32 µg/ml. Ponad 38% szczepów z lat 2011–2012 izolowanych od kurcząt brojlerów było opornych na enrofloksacynę. W porównaniu, szczepy od indyków były odporne w 27,3%. Badania przeprowadzone w południowych Chinach na szczepach *E. coli* izolowanych od drobiu wykazały oporność na enrofloksacynę na poziomie 38,3% [2]. Stwierdzono również w okresie 10 lat wzrost odsetka opornych na enrofloksacynę szczepów w grupie *E. coli* izolowanych od indyków. Szczepy z roku 2001 były odporne jedynie w 16,7%, a szczepy z lat 2011–2012 aż w 27,3%.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Yuste J., Giménez M.J., Jado I., Fenoll A., Aguilar L., Casal J., 2001. Enhanced decrease of blood colony counts by specific anti-pneumococcal antibodies in the presence of sub-inhibitory concentrations of amoxicillin J. Antimicrob. Chemother., 48, 594–595.
- [2] Jiang H.X., Lü D.H., Chen Z.L., Wang X.M., Chen J.R., Liu Y.H., Liao X.P., Liu J.H., Zeng Z.L., 2011. High prevalence and widespread distribution of multi-resistant *Escherichia coli* isolates in pigs and poultry in China. The Veterinary Journal, 187, 99–103.



## TERAPIA RAKA PŁASKONABŁONKOWEGO U ŻAKO (*PSITTACUS ERITHACUS ERITHACUS*)

### THERAPY OF SQUAMOUS CELL CARCINOMA IN AFRICAN GREY PARROT (*PSITTACUS ERITHACUS ERITHACUS*)

Aleksandra Ledwoń, Beata Dolka, Izabella Dolka, Piotr Szeleszczuk

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Ciszewskiego 8, 02-787 Warszawa, e-mail: aledwonn@yahoo.pl

Raki nabłonkowe u ptaków wywodzą się głównie z nabłonka skóry i błon śluzowych, nabłonka pęcherzyków jajnikowych oraz gruczołu kuprowego [2]. Raki płaskonabłonkowe często naciekają okoliczne tkanki z owrzodzeniami na powierzchni. Nowotwory te mogą występować w różnych miejscach, jakkolwiek najczęściej na granicy skóry i błony śluzowej na głowie, dystalnych odcinkach skrzydeł i palców nóg. Przerzuty nie są częste, choć mogą mieć miejsce [4].

**Opis przypadku:** U dwudziestopięcioletniej papugi żako (*Psittacus erithacus erithacus*) stwierdzono ranę w okolicy podeszwowej prawego śródstopia niewykazującą tendencji do gojenia. Rana pokryta była serowatym wysiękiem.

**Postępowanie terapeutyczne:** Początkowo rozpoczęto leczenie ogólne enrofloksacyną, toaletę rany wykonywano 2 razy w tygodniu, usuwano wciąż odnawiającą się warstwę włókniaka i przemywano roztworem antybiotyku. Stosowano również maść Pana-veyxal. Dwukrotnie: w pierwszym dniu terapii i miesiąc później pobrano wymazy do badania bakteriologicznego, z których nie uzyskano wzrostu bakterii. Badanie histopatologiczne pobranego fragmentu tkanki z rany wykazało obecność raka płaskonabłonkowego z rozległymi obszarami martwicy.

Zmienione tkanki usunięto za pomocą noża elektrycznego, a okolice rany zostały nastrzyknięte emulsją karboplatyny i oleju sezamowego; po 2, a następnie 3 tygodniach podano karboplatynę dożylnie w dawce 5mg/kg masy ciała. Przez kilka miesięcy po zabiegu stosowano również terapię wspomagającą odporność organizmu preparatem z kory *Uncaria tomentosa* [3].

Pomimo problemów z ostrym stanem zapalnym przez kilka pierwszych tygodni po zabiegu i martwicy jednego z palców rana uległa kompletnemu wygojeniu, a kondycja ogólna pacjenta uległa znaczącej i trwałej poprawie.

**Omówienie:** W krajowym piśmiennictwie brak jest informacji na temat prób terapii chorób nowotworowych ptaków domowych. Jak wskazuje praktyka ornitopatologiczna, jest konieczne, by w odniesieniu do tej szczególnej grupy pacjentów terapia onkologiczna była intensywnie rozwijana [1, 4]. Zastosowanie przez autorów zabiegu chirurgicznego i chemioterapii z użyciem karboplatyny okazało się skuteczne.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Filippich L.J., 2004. Tumor control in birds. *Semin Avian Exot Pet*, 13, 25–43.
- [2] Lightfoot T.L., 2006. Overview of tumors. *Clinical avian neoplasia and oncology*, [in:] Harrison G., Lightfoot L. (Wyd.). *Clinical Avian Medicine* Spix Publishing: Palm Beach, Florida, 560–565.
- [3] Pilarski R., Filip B., Wietrzyk J., Kuraś M., Gulewicz K., 2010. Anticancer activity of the *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. preparations with different oxindole alkaloid composition. *Phytomedicine*, 22, 1–7.
- [4] Wilson H., Graham J., Roberts R., Greenacre C., Ritchie B., 2000. Integumentary neoplasms in Psittacine birds: treatment strategies. *Proceed. Assoc. of Avian Vets Annual Conf. Lake Worth, Florida*, 211–214.



## WPŁYW OCHRATOKSYNY A ORAZ AFLATOKSYNY B2 NA PARAMETRY BIOCHEMICZNE KURCZĄT BROILERÓW

## INFLUENCE OF OCHRATOXIN A AND AFLATOXIN B2 ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BROILER CHICKENS

**Beata Łebkowska-Wieruszewska, Cezary Jacek Kowalski**

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, Zakład Farmakologii, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin, e-mail: buniasky@o2.pl

Mykotoksyny to toksyczne, wtórne metabolity, niektórych gatunków grzybów strzępkowych, głównie należących do rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Zawartość mykotoksyn w paszach wywołuje przede wszystkim skutki ekonomiczne. Podstawą karmienia drobiu jest zboże z dodatkiem białka. Obydwa produkty są w sprzedaży na całym świecie, w związku z czym na rynku panuje presja w kierunku obniżania cen. Ta presja prowadzi po części do problemów związanych z jakością pasz, co skutkuje większą śmiertelnością i podatnością na choroby zwierząt oraz spadkiem wydajności pasz, przyrostów masy ciała, zmniejszoną produkcją jaj. Powoduje to straty u producentów drobiu, a w wyniku tego także wzrost cen żywności.

Spośród wielu klas związków należących do grupy mykotoksyn tylko dla trzech udowodniono, iż mają właściwości rakotwórcze, a są to aflatoksyny i sterigmatocystyna wpływające na tworzenie się nowotworów wątroby oraz ochratoksyna A wywołująca nowotwory nerek.

**Cel badań:** Określenie wpływu podania mykotoksyn (ochratoksyny A i aflatoksyny B1) na wybrane parametry funkcji nerek, wątroby u kurcząt rzeźnych.

Badania przeprowadzono na kurczętach rzeźnych 40 szt. obojga płci (20 samców i 20 samic), w tym na grupie kontrolnej. Zwierzęta podzielono na 4 grupy po 10 szt. – 1. grupę której podano ochratoksynę A, 2. grupę której podano aflatoksynę B1, 3. grupę której podano etanol (rozpuszczalnik dla mykotoksyn) oraz grupę kontrolną (K). Dawkę (0,5 mg /kg m.c dla każdej z badanych mykotoksyn) ustaloną na podstawie LD50 i NOAEL dla drobiu podano *per os*. Doświadczenie prowadzono przez 10 kolejnych dni, po czym ptaki zostały poddane ubojowi, a następnie pobrano próbki krwi do heparynizowanych probówek. Uzyskana po wirowaniu plazma została wykorzystana do oznaczenia parametrów biochemicznych funkcji wątroby oraz nerek. Badano poniższe parametry biochemiczne: ALT, AST, ALKP, CREA i UREA. W trakcie doświadczenia obserwacji zostały poddane również przyrosty/spadki wagowe oraz spożycie paszy wody.

## BADANIA NAD SEROPREWALENCJĄ ZAKAŻEŃ WIRUSEM AHEV W STADACH KUR W LATACH 2010–2011

### STUDIES ON SEROPREVALENCE OF HEPATITIS E VIRUS IN CHICKEN HEN FLOCKS IN 2010–2011

Joanna Nerc, Piotr Szeleszczuk

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Chorób Ptaków Katedry Patologii i Diagnostyki, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, e-mail: joanna.nerc@gmail.com

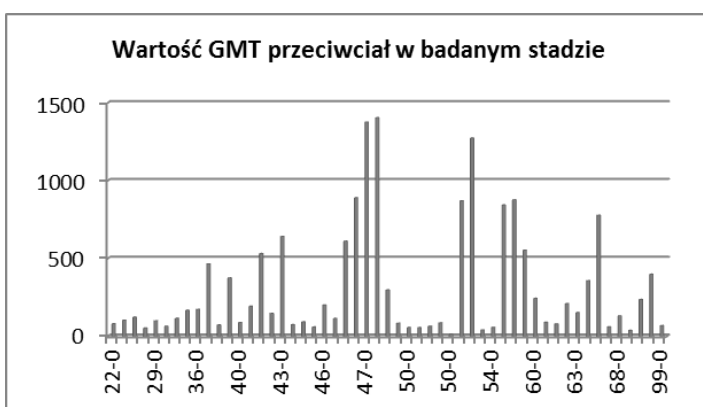
Zakażenia wywołane przez hepawirus zapalenia wątroby typu E u drobiu (avian Hepatitis E Virus – aHEV) mogą być przyczyną strat ekonomicznych w stadach rodzicielskich i stadach niosek towarowych. Charakteryzują się one spadkiem nieśności, niewielkim wzrostem śmiertelności, a typowe zmiany sekcyjne to między innymi powiększenie wątroby i śledziony [1]. Epidemiologia zakażeń aHEV w Polsce jest nieopracowana.

**Cel badań:** Stwierdzenie seroprewalencji zakażeń aHEV w stadach nieśnych kur z terenu Polski centralnej.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiła krew, pobrana zgodnie z zasadami monitoringu serologicznego od 23 ptaków z każdego ze stad. Przeprowadzone badania obejmowały: 3 stada niosek towarowych (NT) w wieku 60–66 tyg.; 2 stada rodzicielskie kur nieśnych (RN) (w wieku 50 i 76 tyg.), zaś 48 badań wykonano z próbkami pochodzącymi z 32 różnych stad rodzicielskich brojlerów (RB) (w wieku 22–95 tyg.). Niektóre z tych stad badano wielokrotnie. Do badań użyto komercyjnego testu ELISA firmy BioChek. Test wykonano zgodnie z instrukcją producenta zestawu.

**Wyniki i omówienie:** Łącznie wykonane badania obejmowały 53 stada, z których 86,8% miało kontakt z zarazkiem. W sumie przebadano 1236 surowic, z których 341 (27,6%) prób było dodatnich. W tabeli podano zestawienie liczbowe poszczególnych parametrów serologicznych, a na wykresie wartości średniego miana geometrycznego dla poszczególnych stad.

Typ produkcyjny	Liczba			Średnie miano geometryczne – GMT	Współczynnik zmienności – CV%	Mediana dla GMT	GMT min.–max.
	badań	stad	ferm				
RB	48	32	22	327,7	112	138	40–1404
RN	2	2	1	24,5	141	24,5	12–37
NT	3	3	3	170,1	122	209	60–243



Uzyskane wyniki badań wskazują na występowanie zakażeń aHEV w badanych stadach. Analizując poszczególne wyniki można zauważyć zależność między wiekiem ptaków a GMT. Ptaki starsze miały najczęściej wyższe miana specyficznych przeciwciał niż ptaki młodsze. Stopień seroprewalencji był zdecydowanie wyższy w stadach rodzicielskich brojlerów, co potwierdza dane piśmiennictwa [1].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Huang F.F., Haqshenas G., Shivaprasad H.L., Guenette D.K., Woolcock P.R., Larsen C.T., Pierson F.W., Elvinger F., Toth T.E., Meng X.J., 2002. Heterogeneity and Seroprevalance of a Newly Identifies Avian Hepatitis E Virus from Chicken in the United States. J. Clin. Microbiol., 40 (11), 4197–4202.



## INTERAKCJE POMIĘDZY SZCZEPAMI SZCZEPIONKOWYMI WIRUSA CHOROBY MAREKA (MD) A ADENOWIRUSAMI (FADV) WYSTĘPUJĄCYMI U PTAKÓW

### INTERAKCTIONS BETWEEN MAREK DISEASE (MD) VACCINE STRAINS AND ADENOVIRUSES (FADV) IN BIRDS

Jowita Samanta Niczyporuk, Grzegorz Woźniakowski, Elżbieta Samorek-Salamonowicz, Hanna Czekaj

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Chorób Wirusowych Drobiu, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: jowita.niczyporuk@piwet.pulawy.pl

Przypadki zakażeń wirusem choroby Mareka (MD) u ptaków przebiegają coraz częściej z przełamaniem odporności poszczepiennej i rozwinięciem się MD pomimo stosowanych szczepień profilaktycznych. Jedną z przyczyn obniżenia skuteczności tych szczepień mogą być zakażenia adenowirusami rozpowszechnionymi w populacji drobiu i często izolowanymi z przypadków choroby Mareka u szczepionych ptaków.

**Cel badań:** Określenie wpływu zakażenia adenowirusami na replikację szczepów szczepionkowych Rispens CIV 988 oraz FC12 HVT w warunkach *in vitro*.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły szczepy szczepionkowe wirusa choroby Mareka Rispens CIV988 i FC12 HVT oraz terenowy szczep adenowirusa JN-5/10j wyizolowany z przypadku przełamania odporności poszczepiennej od ptaków. Badania zostały wykonane w jednowarstwowych hodowlach komórek fibroblastów zarodka kurzego CEF. 24-godzinne hodowle zostały zakażone szczepami szczepionkowymi MD i szczepem terenowym adenowirusa JN-5/10j w następujący sposób:

1. Zakażenie jednoczesne szczepem CVI988 Rispens oraz różnymi dawkami szczepu adenowirusa JN-5/10j w dawce ( $10^1$ – $10^3$  TCID<sub>50</sub>)
2. Zakażenie szczepem CVI988 Rispens, a po 24 godz. różnymi dawkami szczepu JN-5/10j ( $10^1$ – $10^3$  TCID<sub>50</sub>)
3. Zakażenie różnymi dawkami szczepu adenowirusa JN-5/10j, a po 24 godz. szczepem CVI988 Rispens

W takim samym układzie zostały przeprowadzone badania z użyciem szczepu FC12 HVT oraz obu tych szczepów FC12 HVT i CVI988 Rispens w interakcji ze szczepem adenowirusa JN-5/10j. Zakażone hodowle CEF inkubowano przez 96 godzin. W 18., 24., 48., 72. oraz 96. godz. po zakażeniu hodowle zbierano, a następnie przy użyciu metody Real-time PCR określano miano herpeswirusów oraz obecność adenowirusa.

**Wyniki i omówienie:** Przy zakażeniu jednoczesnym hodowli CEF szczepem FC12 HVT w dawce  $10^3$ TCID<sub>50</sub> oraz szczepem JN-5/10j w dawce  $10^{1-3}$ TCID<sub>50</sub> podczas trwania doświadczenia materiał genetyczny terenowego szczepu adenowirusa wykryto we wszystkich kombinacjach zakażeń. W interakcji szczepu szczepionkowego FC12 HVT widoczny jest wpływ szczepu adenowirusa na replikację szczepu szczepionkowego HVT, która zostaje zahamowana we wszystkich wariantach zakażenia. Zakażenie hodowli CEF szczepem szczepionkowym Rispens CVI988 oraz różnymi dawkami adenowirusa  $10^{1-3}$ TCID<sub>50</sub> przy zakażeniu jednoczesnym hamowało replikację szczepu szczepionkowego Rispens CIV988 po 96 godz. o 2 log<sub>10</sub>. Pozostałe warianty zakażeń nie miały znaczącego wpływu na replikację szczepu szczepionkowego Rispens CVI988. Analogiczne wyniki uzyskano w trzecim wariantcie zakażenia, gdzie do badań użyto szczepu szczepionkowego Rispens CVI988, szczepu szczepionkowego FC12 HVT oraz szczepu terenowego adenowirusa JN-5/10j w dawce  $10^{1-3}$ TCID<sub>50</sub>.

Uzyskane wyniki wskazują na wpływ zakażenia adenowirusami na replikację szczepu szczepionkowego FC12 HVT, natomiast nie mają znaczącego wpływu na replikację szczepu szczepionkowego Rispens. Badania te zostaną wykonane również w warunkach *in vivo* na kurczętach.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Grigić H., Philippe C., Ojkić D., Nagy E., 2006. Study of vertical transmission of fowl adenoviruses. The Canadian Journal of Veterinary Research, 70, 230–233.





## PRZEBIEG ZAKAŻENIA PPMV-1 U GOŁĘBI W BADANIACH EKSPERYMENTALNYCH

## THE COURSE OF PPMV-1 INFECTION IN EXPERIMENTALLY INFECTED PIGEONS

Monika Olszewska, Krzysztof Śmietanka, Katarzyna Domańska-Blicharz, Zenon Minta,  
Krzysztof Wyrostek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Drobiu,  
Al. Partyzanów 57, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: monika.olszewska@piwet.pulawy.pl

Rzekomy pomór drobiu jest jedną z najgroźniejszych chorób zakaźnych drobiu i znajduje się na liście chorób podlegających obowiązkowi zgłaszania i zwalczania w krajach OIE, w tym w Unii Europejskiej. Choroba wywoływana jest przez patogenne szczepy paramyksowirusów ptaków serotypu 1 (APMV-1), zwanych również wirusami choroby Newcastle (NDV). Wirusy ND charakteryzują się dużym spektrum patogenności, a wśród licznych wariantów genetycznych i antygenowych wyróżnia się tzw. wariant gołębi (określany jako PPMV-1), odpowiedzialny za czwartą falę pandemii rzekomego pomoru drobiu, rozpoznanej po raz pierwszy na Bliższym Wschodzie pod koniec lat 70. i trwającej do dziś [1, 2].

**Cel pracy:** Ocena zmian klinicznych oraz określenie poziomu replikacji wirusa w narządach i siewstwa z układu oddechowego i pokarmowego u gołębi zakażonych krajowych izolatami PPMV-1.

**Materiał i metody:** W badaniach użyto wirusa PPMV-1/Poland/332/05 wyizolowanego od gołębi miejskich w 2005 r. Wykonane wcześniej charakterystyki antygenowej, molekularnej oraz określenie patogenności *in vivo* na pisklętach SPF (test ICPI) wykazały, iż jest to patogenny wariant gołębi [4]. Do zakażenia eksperymentalnego wykorzystano gołębie rasy pawik w wieku ok. 6 miesięcy pozyskane z hodowli prywatnej. Przed zakażeniem eksperymentalnym wszystkie ptaki były przebadane serologicznie w kierunku obecności przeciwciał dla wirusa ND z wynikiem ujemnym. Grupa składająca się z 10 ptaków była zakażona dawką  $10^6 \text{EID}_{50}$ /ptaka dospojówko i donosowo. Około 24 godziny później do tej samej klatki izolowanej wstawiono 2 wrażliwe gołębie kontaktowe, stanowiące kontrolę siewstwa. Prowadzono codzienną obserwację kliniczną, a w 2., 4., 7., 10. i 14. dniu po zakażeniu (p.i.) od wszystkich ptaków pobierano wymazy z jamy ustno-gardłowej oraz kloaki. Ponadto od dwóch ptaków padłych lub humanitarnie uśmierconych w każdym z wymienionych wyżej terminów pobierano narządy: mózg, płuca, nerki, śledzionę i dwunastnicę do badań ilościowych metodą real time RT-PCR [3].

**Wyniki i omówienie:** Klinicznie od 4 dnia po zakażeniu występowały objawy nerwowe w postaci drżeń skrzydeł i zaburzeń koordynacji ruchowej oraz lekka biegunka. Dwa gołębie padły pomiędzy 8.–11. dniem p.i. Materiał genetyczny wirusa wykrywano u gołębi zakażonych pomiędzy 2. a 10. dniem p.i. (wymazy) oraz 2. a 14. dniem p.i. (narządy), ze szczytem w 7. dniu p.i. Średnia ilość materiału genetycznego w niektórych przypadkach przekraczała  $10^5 \text{EID}_{50}/\text{ml}$  (wymazy z jamy dziobowej) i  $10^7 \text{EID}_{50}/\text{ml}$  (wymazy z kloaki). Najwyższą ilość materiału genetycznego w narządach stwierdzano pomiędzy 4. i 7. dniem p.i., a wirus wykazywał największą predylekcję do płuc i mózgu. Wirus uległ efektywnej transmisji do wrażliwych gołębi kontaktowych. Podsumowując, wyniki przeprowadzonych badań wskazują na wysoką patogenność badanego izolatu PPMV-1 w badaniach *in vivo* oraz jego neuro- i pneumotropizm.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Alexander D.J., 2011. Newcastle disease in the european union 2000 to 2009. *Avian Pathology*, 40, 547–558.
- [2] Kaleta E.F., Alexander D.J., Russell P.H., 1985. The first isolation of the PMV-1 virus responsible for the current panzootic in pigeons? *Avian Pathology*, 14, 553–557.
- [3] Kim L.M., Suarez D L., Afonso C.L., 2008. Detection of a broad range of class I and II newcastle disease viruses using a multiplex real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20, 414–425.
- [4] Śmietanka K., Minta Z., Domańska-Blicharz K., Majer-Dziedzic B., Pochodyła A., 2006. Characterization of pigeon paramyxovirus type 1 strains isolated in poland in 1988–2005. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 50, 283–286.



## CHARAKTERYSTYKA GENETYCZNA KRAJOWYCH IZOLATÓW WIRUSA CHOROBY GUMBORO

### GENETIC CHARACTERIZATION OF GUMBORO DISEASE VIRUS ISOLATES FROM POLAND

Anna Pikuła, Krzysztof Śmietanka, Zenon Minta

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Drobiu,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: anna.pikula@piwet.pulawy.pl

Zakaźne zapalenie bursy Fabrycjusza (choroba Gumboro, IBD) jest zakaźną wirusową chorobą kurcząt, w której dochodzi do uszkodzenia bursa Fabrycjusza, co w konsekwencji upośledza układ immunologiczny i prowadzi do immunosupresji [1]. Wirus IBD należy do rodziny *Birnaviridae*, rodzaj *Avibirnavirus*. Genom IBDV stanowi RNA składający się z dwóch segmentów: A i B. Ponieważ wirus IBD ma genom dwusegmentowy, istnieje możliwość wymiany segmentów w zakażonej komórce pomiędzy co najmniej dwoma wirusami o różnym pochodzeniu, np. wirusem szczepionkowym i terenowym, a zjawisko to nosi nazwę reasortacji.

**Cel pracy:** Charakterystyka molekularna oraz ocena pokrewieństwa filogenetycznego krajowych izolatów IBDV na podstawie sekwencji nukleotydowej i aminokwasowej genów VP2 (segment A) i VP1 (segment B).

**Materiał i metody:** W badaniach wykorzystano 20 krajowych izolatów wirusa IBD z lat 1991–2011. Izolację RNA wykonano za pomocą komercyjnego zestawu RNasy Mini Kit, firmy Qiagen® zgodnie z instrukcją producenta. Do amplifikacji genów VP1 i VP2 wykorzystano ogółem 7 par starterów. Sekwencjonowanie produktów PCR wykonywano w firmie Genomed, Warszawa. Analizę sekwencji nukleotydowych i aminokwasowych przeprowadzono przy użyciu programów komputerowych FinchTV i DNASTAR Lasergene 8. Sekwencje zestawiono za pomocą algorytmu Clustal W, a następnie skonstruowano drzewa filogenetyczne, opierając się na metodzie przyłączania sąsiada w programie MEGA 5 (2).

**Wyniki i omówienie:** Porównanie sekwencji nukleotydowej fragmentu genu VP2 o długości 630 pz wykazało, że wszystkie badane izolaty należą do szczepów wysoce zjadliwych (vvIBDV). Również analiza sekwencji aminokwasowej potwierdziła obecność unikalnych zmian w 4 pozycjach regionu wysoce zmiennego VP2 typowych dla szczepów vvIBDV. Analiza filogenetyczna wykazała dużą heterogenność genetyczną polskich szczepów IBD, które zakwalifikowano do 3 różnych podgrup w grupie obejmującej wysoce patogenne IBDV. Może to sugerować, że do introdukcji różniących się IBDV dochodziło w Polsce co najmniej kilka razy. Charakterystyka na podstawie fragmentu genu VP1 o długości 2690 nukleotydów umożliwiła klasyfikację większości badanych szczepów do grupy vvIBDV. Jednak cztery szczepy miały w niektórych miejscach obecność substytucji typowych dla wirusów o klasycznej zjadliwości, a jeden szczep, wysoce patogenny opierający się na genie VP2, wykazał istotną różnicę w sekwencji aminokwasowej VP1, która umiejscawia ten izolat w całości w grupie wirusów klasycznych (cIBDV), co sugeruje, że może to być naturalny reasortant wirusa choroby Gumboro, w którym segment A pochodzi od szczepu vvIBDV, zaś segment B od szczepu cIBDV (np. szczepionkowego). Charakterystyka genetyczna krajowych izolatów IBDV pozwoliła stwierdzić, że populacja krążących w Polsce szczepów ciągle ewoluuje i wciąż stanowi zagrożenie dla krajowego chowu kurcząt. Wykrycie reasortacji może mieć poważne konsekwencje w aspekcie nabywania przez wirusy nowych cech fenotypowych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Etteradossi N., Saif Y.M., 2008. Infections Bursal Disease, [in:] Diseases of Poultry, 12th Ed., Saif Y.M. et al., Blackwell Publishing, Ames, Iowa, USA, 185–208.
- [2] Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S., 2011. Mol Biol. Evol. 28, 2731–2739.



## OCENA WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW HEMOSTAZY OSOCZOWEJ U KURCZĄT W PRZEBIEGU DOŚWIADCZALNEJ OCHRATOKSYKOZY

### EVALUATION OF CHOSEN HAEMOSTATIC PARAMETERS IN THE COURSE OF EXPERIMENTAL OCHRATOXICOSIS IN CHICKENS

**Aleksandra Pliszczak-Król, Kamal Rouibah, Stanisław Graczyk, Marek Houszka,  
Alicja Iwaszko-Simonik**

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, Zakład Patofizjologii, Pracownia Ekologii i Chorób Zwierząt Łownych, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: aleksandra.krol@up.wroc.pl*

Występowanie w paszach mikotoksyn, w tym ochratoksyn, stanowi poważny problem w hodowli drobiu. Szerokie spektrum efektów biologicznych ochratoksyny A (OA) obejmuje obok dużej śmiertelności i pogorszenia efektów produkcyjnych immunosupresję oraz skłonność do krwawień [1, 3]. Mechanizmy towarzyszących ochratoksykozie zaburzeń krzepnięcia stanowią otwarte zagadnienie [2].

**Cel badań:** Ocena hemostazy osoczowej u kurcząt poddanych działaniu obecnej w paszy ochratoksyny A.

**Materiał i metody:** Badaniami objęto 30 czternastodniowych kurcząt brojlerów, linii COB-500, które podzielono na trzy grupy. Ptakom doświadczalnym przez okres 10 dni (grupa D-10) lub 20 dni (grupa D-20) podawano paszę zawierającą ochratoksynę A (6 mg/kg paszy). Kurczęta grupy kontrolnej K-0 otrzymywały standardową paszę wolną od mikotoksyn. W 10. i 20. dniu doświadczenia od ptaków poszczególnych grup pobrano krew, z której otrzymywano osocze cytrynianowe służące do badań koagulologicznych. Ocenę sprawności układu krzepnięcia przeprowadzono oznaczając czas protrombinowy (PT), czas trombinowy (TT) oraz czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) za pomocą koagulometru Coag Chrom 3003.

**Wyniki i omówienie:** Wykazano, że karmienie kurcząt przez okres 10 lub 20 dni paszą zawierającą ochratoksynę A prowadzi do ponad 5-krotnego wydłużenia czasu APTT. Wydłużeniu czasu APTT, przy niewielkich zmianach czasu PT, towarzyszyło skrócenie czasu TT. Odnotowany równocześnie u ptaków otrzymujących ochratoksynę A obniżony poziom białek osocza potwierdza spostrzeżenia o jej hepatotoksycznym działaniu. Z uszkodzeniem wątroby i w konsekwencji obniżeniem produkcji białek osocza wiązać się może także wydłużenie czasu APTT. Możliwe jest również, że wykazane zmiany czasu APTT stanowią wynik obniżenia aktywności czynników krzepnięcia związanych z torem wewnątrzpo pochodnym. Natomiast, skrócenie czasu TT, będącego wykładnikiem toru wspólnego, przy braku zmian w poziomie fibrynogenu może wskazywać na rozwijającą się w warunkach ochratoksykozy kompensacyjną aktywację czynnika II – trombiny. Uzyskane wyniki wskazują na wyraźny, a zarazem różnicowany wpływ ochratoksyny A na funkcjonowanie hemostazy wtórnej – osoczowej, zachęcają równocześnie do dalszych badań zmierzających do poznania mechanizmów toksycznego oddziaływania mikotoksyn zawartych w paszy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Fernandez A., Verde M.T., Gomez J., Gascon M., Ramos J.J., 1995. Changes in the prothrombin time, haematology and serum proteins during experimental aflatoxicosis in hens and broiler chickens, *Research in Veterinary Science*, 58, 119–122.
- [2] Raju, M.V., Devegowda, G., 2000. Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and hematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin). *British Poultry Science*, 41, 640–650.
- [3] Elaroussi M.A., Mohamed F.R., El Barkouky E.M., Atta A.M., Abdou A.M, Hatab M.H., 2006. Experimental ochratoxicosis in broiler chickens, *Avian Pathology* 35, 263–269.



## RÓŻNICE W MECHANIZMACH REGULUJĄCYCH WYDZIELANIE MELATONINY U PISKŁĄT I OSOBNIKÓW DOROSŁYCH KACZKI DOMOWEJ

### DIFFERENCES IN MECHANISMS REGULATING MELATONIN SECRETION IN NESTLINGS AND ADULT INDIVIDUALS OF THE DOMESTIC DUCK

Magdalena Prusik, Bogdan Lewczuk, Natalia Ziółkowska, Barbara Przybylska-Gornowicz,  
Wojciech Petryński

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Histologii  
i Embriologii, Oczapowskiego 13, 10-713 Olsztyn, email: mprusik@uwm.edu.pl

Mechanizmy regulujące sekrecję melatoniny (MLT) w szyszynce ptaków były badane dotychczas u nielicznych gatunków, głównie u kury, przepiórki japońskiej oraz indyka. W świetle uzyskanych wyników pinealocyty ptaków obdarzone są zdolnością do odbioru bodźców świetlnych oraz generowania rytmicznych zmian swojej aktywności, dzięki czemu hodowane *in vitro* w warunkach cyklu świetlnego wydzielają MLT w rytmie dobowym dopasowanym do oświetlenia w otoczeniu, zaś umieszczone w ciemności – w rytmie okołodobowym. Ważną rolę w regulacji wydzielania MLT u ptaków odgrywa również noradrenalina (NA), uwalniana z włókien sympatycznych, stanowiących ostatni element, słabo poznanej u ptaków, wielosynaptycznej drogi nerwowej, łączącej szyszynkę z siatkówką oka. Mechanizmy regulujące sekrecję melatoniny u ptaków blaszkodziobych nie były dotychczas badane.

**Cel pracy:** Określenie roli NA oraz światła odbieranego bezpośrednio przez pinealocyty w regulacji wydzielania MLT w szyszynce kaczki domowej.

**Materiał i metody:** Szyszynki do badań pobierano od jednodniowych piskląt oraz kaczek w wieku 9 miesięcy, odchowywanych od 6. tygodnia życia w warunkach cyklu świetlnego 12L:12D (światło o natężeniu około 200 lx od 7:00 do 19:00). Ptaki poddawano eutanazji pomiędzy godziną 10:00 a 11:00. Szyszynki, pobrane natychmiast po dekapitacji, umieszczano w komorze zestawu do inkubacji w przepływie medium. Hodowlę narządową przepływową prowadzono w temperaturze 39°C, w medium 199 nagażowanym mieszaniną O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub>. Stężenia MLT w medium oznaczano metodą RIA. Szyszynki inkubowano przez pierwsze 4 doby w warunkach cyklu świetlnego: 1) 12L:12D (dzień od 7.00 do 19.00), 2) 12L:12D z ekspozycją na NA o stężeniu 10µM podczas dnia, 3) 12D:12L (dzień od 19.00 do 7.00), 4) 12D:12L z ekspozycją na NA o stężeniu 10µM podczas dnia. Przez dwie kolejne doby gruczoły inkubowano w ciemności.

**Wyniki i omówienie:** Szyszynki piskląt inkubowane w warunkach 12L:12D oraz 12D:12L wydzielają MLT w rytmie dobowym, charakteryzującym się stopniowym wzrostem sekrecji w pierwszej części nocy aż do osiągnięcia maksimum pomiędzy 2.00 a 4.00 i spadkiem w drugiej części nocy. Najniższy poziom wydzielania badanego hormonu stwierdzono podczas dnia i był on około 2,5-krotnie mniejszy od poziomu maksymalnego notowanego w nocy. U kaczek 9-miesięcznych, inkubowanych w warunkach 12L:12D zmiany poziomu MLT były cykliczne, lecz nieregularne. Adaptację aktywności wydzielniczej szyszynki u tych ptaków do cyklu 12D:12L odnotowano dopiero w trakcie trzeciej doby hodowli. Szyszynki piskląt i ptaków 9-miesięcznych ekspozycje na NA podczas dnia wydzielają MLT w rytmie dobowym, bardzo dobrze dopasowanym do zmian w oświetleniu i obecności NA w medium. Poziom wydzielania hormonu był 15–20 razy wyższy w nocy niż w dzień. Szyszynki zaadaptowały się do odwróconego cyklu świetlnego już w pierwszej dobie doświadczenia. Endogenne generowany rytm aktywności wydzielniczej szyszynki, badany w trakcie dwóch ostatnich dób inkubacji w ciemności, był słabo wyrażony u kaczek dojrzałych płciowo i silniej u piskląt. Kluczową rolę w regulacji sekrecji ML u kaczki wydaje się odgrywać NA, która prawdopodobnie warunkuje zarówno wielkość amplitudy, jak i adaptację aktywności wydzielniczej szyszynki do warunków otoczenia. Funkcjonowanie gruczołu u kaczki może być w znacznym stopniu uzależnione od siatkówki oraz podwzgórza, zaś jego autonomia (silnie zaznaczona u innych gatunków, np. indyka) wydaje się być istotnie ograniczona. Światło odbierane bezpośrednio przez szyszynkę ma większy wpływ na wydzielanie MLT u piskląt niż u ptaków dojrzałych płciowo.

Badania wykonano w ramach grantu NN 308 069937.





## CHARAKTERYSTYKA FENOTYPOWA SZCZEPÓW GRONKOWCÓW KOAGULAZO-UJEMNYCH IZOLOWANYCH Z JAJ KURZYCH

### PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF COAGULASE-NEGATIVE STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM HEN'S EGGS

Pyzik Ewelina, Marek Agnieszka

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Chorób Ptaków, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, e-mail: welina.pyzik@up.lublin.pl

Gronkowce koagulazo-ujemne (ang. Coagulase-Negative Staphylococci CNS) przez wiele lat uznawane były głównie za mikroflorę zanieczyszczającą lub sporadycznie za patogeny oportunistyczne. Obecnie coraz częściej stwierdza się, że niektóre gatunki gronkowców koagulazo-ujemnych spotykane początkowo tylko u zwierząt lub w produktach pochodzenia zwierzęcego są izolowane również od pacjentów z bakteriami, zapaleniem wsierdza, zakażeniami ran, dróg oddechowych, moczowych lub zatruciami pokarmowymi [1, 2]. Fakt ten szczególnie uzasadnia potrzebę prowadzenia badań obejmujących zarówno częstość występowania tych drobnoustrojów w tkankach zwierząt oraz produktach pochodzenia zwierzęcego, jak również szczegółową charakterystykę szczepów bakterii z rodzaju *Staphylococcus*.

**Cel pracy:** Dokonanie charakterystyki fenotypowej szczepów CNS izolowanych z białka, żółtka i skorupy jaj kurzych konsumpcyjnych.

**Materiał i metody:** W badaniach wykorzystano 90 sztuk jaj kurzych konsumpcyjnych pochodzących z 9 różnych ferm niosek towarowych zlokalizowanych w okolicach Lublina. Izolację drobnoustrojów z rodzaju *Staphylococcus* przeprowadzono przy użyciu standardowych metod hodowli. Do identyfikacji wyizolowanych szczepów gronkowców zastosowano test API Staph (BioMerieux) oraz wykonano testy dodatkowe. Badanie wrażliwości wyizolowanych szczepów bakterii na wybrane antybiotyki i sulfonamidy wykonywano metodą dyfuzyjno-krążkową wg Kirby-Bauera. Profile lekowrażliwości wyizolowanych drobnoustrojów określono w odniesieniu do następujących preparatów (OXOID): amoksylicyna (AMX), amoksylicyna z kwasem klawulanowym (AMC), cefaleksyna (CL), chloramfenikol (C), enrofloksacyna (ENR), erytromycyna (E), flumechina (UB), gentamycyna (CN), klindamycyna (DA), Linkospektin (linkomycyna/spektynomycyna) (LS), neomycyna (N), oxacylina (OX), oxytetracyklina (OT), penicylina G (P), streptomycyna (S), sulfametoksazol potencjonowany trimetoprimem (SXT) oraz tetracyklina (TE).

**Wyniki i omówienie:** Wyniki wskazują, że dość wysoki odsetek zbadanych jaj kurzych pochodzących z handlu detalicznego był zakażony bakteriami z rodzaju *Staphylococcus*. Z materiału wyizolowano ogółem 87 szczepów z rodzaju *Staphylococcus* wyizolowanych z białka, żółtka i skorupy jaj kurzych konsumpcyjnych, zidentyfikowanych jako: *S. xylosum* – 31 szczepów (35,63%), *S. hominis* – 16 szczepów (18,4%), *S. lentus* – 16 szczepów (18,4%), *S. sciuri* – 9 szczepów (10,3%), *S. epidermidis* – 4 szczepy (4,6%), *S. saprophyticus* – 3 szczepy (3,4%), *S. lugdunensis* – 2 szczepy (2,3%), *S. hycicus* – 2 szczepy (2,3%), *S. warneri* – 2 szczepy (2,3%), *S. chromogenes* – 1 szczep (1,1%) oraz *S. haemoliticus* – 1 szczep (1,15%). Badanie wrażliwości na antybiotyki i chemioterapeutyki z użyciem 87 izolatów bakteryjnych z rodzaju *Staphylococcus* wykazało, że najwyższy odsetek szczepów opornych uzyskano w stosunku do oksytetracykliny (47,1%), tetracykliny (46,0%), erytromycyny (39,1%), flumechiny (36,8%) i penicyliny G (36,8%). Wśród badanych gronkowców nie wykazano szczepów opornych w warunkach *in vitro* na gentamycynę (CN). Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że żaden ze zbadanych szczepów nie syntetyzował wykrywalnych ilości koagulazy w teście probówkowym. Wszystkie szczepy rozkładały glukozę i fruktozę. Analiza pozostałych właściwości biochemicznych wykazała znaczne zróżnicowanie badanych szczepów *Staphylococcus* w obrębie gatunków.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Tanner M.A., Everett C.L., Youvan D.C., 2000. Molecular Phylogenetic Evidence for Noninvasive Zoonotic Transmission of *Staphylococcus intermedius* from a Canine Pet to a Human. J. Clin. Microbiol. 38, 4: 1628–1631.
- [2] Bes M., Saidi Slim L., Becharnia F., Meugnier H., Vandenesch F., Etienne J., Freney J., 2002. Population Diversity of *Staphylococcus intermedius* Isolates from Various Host Species: Typing by 16S-23S Intergenic Ribosomal DNA Spacer Polymorphism Analysis. J. Clin. Microbiol. 40, 6: 2275–2277.





## MONITORING WYBRANYCH ZAKAŻEŃ WIRUSOWYCH GOŁĘBI NA TERENIE POLSKI INVESTIGATION ON SELECTED PIGEON VIRAL INFECTIONS IN POLAND

Tomasz Stenzel, Daria Pestka, Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Andrzej Koncicki

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Ptaków,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: ptasiarz@wp.pl

Zakażenia wirusowe gołębi przebiegające z dużą zachorowalnością i śmiertelnością, głównie u ptaków młodych, zostały nazwane zespołem choroby gołębi młodych (YPDS). Za przyczynę YPDS pierwotnie uważano adenowirusy. Coraz więcej danych wskazuje, że immunosupresja wywołana przez cirkowirus gołębi (PiCV) w połączeniu z czynnikami stresowymi (odstawienie od rodziców, pierwsze szczepienia, stres socjalny, treningi) odpowiedzialna jest za pojawienie się objawów YPDS.

**Cel pracy:** Wstępna ocena sytuacji epizootycznej wybranych zakażeń wirusowych u gołębi hodowanych na terenie Polski.

**Materiał i metody:** Badaniami objęto próbki wymazów oraz narządów wewnętrznych (wątroba, śledziona, bursy Fabrycjusza) pobranych od ptaków pochodzących ze 107 stad z różnych regionów kraju. Próbki pochodziły z 13 województw. Stada gołębi podzielono na 2 grupy: R – gołębie pocztowe oraz F – gołębie ozdobne. Ponadto poszczególne stada zakwalifikowano do odpowiednich podgrup utworzonych na podstawie wieku oraz stanu zdrowia ptaków objętych badaniem. Stada gołębi dorosłych oznaczono symbolem A, a młodych – Y. Gołębie ze stad niewykazujących objawów klinicznych w chwili badania zostały oznaczone symbolem H, natomiast stada ptaków chorych – symbolem S. W celu wykrycia obecności materiału genetycznego herpeswirusa gołębi (PiHV), cirkowirusa gołębi (PiCV) oraz adenowirusa ptaków (FadV) zastosowano metodę multiplex PCR, z kolei w celu detekcji adenowirusa gołębiego (PiAV) – uniplex PCR. Produkty amplifikacji poddano rozdzielowi elektroforetycznemu w 2% żelu agarozowym z dodatkiem bromku etydyny. Wyniki elektroforezy odczytywano za pomocą systemu do wizualizacji żeli GelDoc i archiwizowano w postaci zdjęć cyfrowych.

**Wyniki i omówienie:** Wykazano, że najczęściej występującym u gołębi wirusem jest PiCV. Jego obecność stwierdzono u 80% ptaków wykazujących objawy YPDS oraz u 44,5–75% (w zależności od grupy) gołębi klinicznie zdrowych. Drugim pod względem częstotliwości występowania okazał się herpeswirus gołębi (8–30% w zależności od grupy). W żadnej z prób nie stwierdzono obecności materiału genetycznego FadV, natomiast gołębi adenowirus odnotowano w zaledwie 2 stadach gołębi młodych (1 stado gołębi ozdobnych oraz 1 stado gołębi pocztowych), co stanowiło 5% badanych ptaków z danej grupy. Uzyskane wyniki badań własnych pozwalają stwierdzić, że zakażenia cirkowirusowe u gołębi są bardzo powszechne, a sytuacja epizootyczna zakażeń wirusowych u tych ptaków w Polsce jest podobna do sytuacji w innych krajach europejskich.

### Piśmiennictwo:

- [1] Abadie J., Nguyen F., Groizeleau C., Amenna N., Fernandez B., Guereaud C., Guigand L., Robart P., Lefebvre B., Wyers M., 2001. Pigeon Circovirus infection: pathological observations and suggested pathogenesis. *Avian Pathol.* 30: 149–158.
- [2] Franciosini M.P., Fringuelli E., Tarhuni O., Guelfi G., Todd D., Casagrande Proietti P., Falocci N., Asdrubali G., 2005. Development of polymerase chain reaction-based in vivo method in the diagnosis of subclinical pigeon circovirus infection. *Avian Dis.* 49, 340–343.
- [3] Freick M., Müller H., Raue R., 2008. Rapid detection of pigeon herpesvirus, fowl adenovirus and pigeon circovirus in young racing pigeons by multiplex PCR. *Journal Virol. Methods*, 148, 226–231.
- [4] Raue R., Hess M., 2002. A fiber gene-based polymerase chain reaction for specific detection of pigeon adenovirus. *Avian Pathol.* 31: 95–99.
- [5] Todd D., Duchatel J.P., Bustin J.C., Scullion F.T., Scullion M.G., Scott A.N.J., Curry A., Ball N.W., Smyth J.A., 2006. Detection of pigeon circovirus in cloacal swabs: implications for diagnosis, epidemiology and control. *Vet. Rec.* 159, 314–317.



## WYBRANE PARAMETRY LOKALNEJ ODPORNOŚCI KOMÓRKOWEJ ORAZ HUMORALNEJ U INDYKÓW UODPORNIANYCH PRZECIWKO TRT

### SELECTED PARAMETERS OF LOCAL CELL-MEDIATED AND HUMORAL IMMUNITY IN TURKEYS IMMUNISED AGAINST THE TRT

**Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Tomasz Stenzel, Andrzej Koncicki**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
Katedra Chorób Ptaków, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: aka.martino@wp.pl

Ptasie metapneumowirusy (*avian Metapneumovirus* – aMPV) są silnie zakaźnym czynnikiem wywołującym infekcje górnych dróg oddechowych (GDO) u indyków jak i u kur. Choroba wywołwana przez aMPV u indyków opisywana jest jako zakaźne zapalenie nosa i tchawicy (TRT – turkey rhinotracheitis). Obecnie stosowane programy szczepień profilaktycznych w stadach reprodukcyjnych stymulują produkcję wysokich mian przeciwciał IgY, które przekazywane do jaj zabezpieczają kłujące się z nich pisklęta w pierwszych dniach ich życia. Badania nad odpornością humoralną w przebiegu zakażenia aMPV wskazują jednak na brak korelacji pomiędzy mianem swoistych przeciwciał IgY a stopniem odporności na TRT. Wymusza to konieczność szczepienia piskląt w pierwszym dniu ich życia.

**Cel badań:** Określenie kształtowania się wybranych parametrów lokalnej odporności na terenie GDO u piskląt indyckich (ze stada reprodukcyjnego szczepionego przeciwko aMPV) w odpowiedzi na aerozolowe szczepienie przeciwko TRT.

**Materiał i metody:** Jednodniowe pisklęta indyckie typu Big 9 podzielono na dwie grupy. Ptaki z grupy II w pierwszym dniu życia uodporniono szczepionką Poulvac<sup>®</sup>TRT (ScanVet, Polska) metodą dużej kropli. W tym samym czasie ptaki z grupy I otrzymały aerozolowo sterylny PBS.

W 3., 7. i 14. dniu po szczepieniu od indyków z obu grup pobierano krew, gruczoły Hardera (HG) oraz popłuczyny z tchawicy. HG posłużyły do oznaczenia procentowego udziału limfocytów T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> oraz B o izotypie IgM<sup>+</sup> i IgA<sup>+</sup>, z zastosowaniem cytometru przepływowego BD FACSCanto II (BD, USA). W popłuczynach z tchawicy i w surowicy krwi oznaczano miano przeciwciał IgY anty-aMPV z wykorzystaniem dwóch komercyjnych testów oraz in-house ELISA.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki wskazują na sukcesywny spadek mian przeciwciał IgY anty-aMPV w surowicy krwi i w popłuczynach z tchawicy u indyków z obu grup, przy czym był on szybszy w grupie II (indyki uodporniane). Wyniki te sugerują, że wirus szczepionkowy mógł podlegać neutralizacji przez immunoglobuliny matczyne, co w procesie immunofagocytozy mogło przyczynić się do spadku ich mian. Z drugiej strony, przeciwciała te neutralizując wirus, mogły zahamować swoistą reakcję immunologiczną, w tym wytworzenie przeciwciał IgY w odpowiedzi na szczepienie.

U ptaków grupy II, między 3. a 7. dniem po szczepieniu stwierdzono w HG krótkotrwały wzrost odsetka obu badanych subpopulacji limfocytów T, a w 14. dobie zanotowano jedynie niewielką przewagę komórek CD4<sup>+</sup> w porównaniu z indykami z grupy I. Wyniki te korespondują z wynikami Limana i Rautenschleina [1], którzy stwierdzili wzrost odsetka limfocytów T CD4<sup>+</sup> w HG u 35 dniowych indyków w 7.–14. dniu po szczepieniu przeciwko TRT, podczas gdy odsetek limfocytów T CD8<sup>+</sup> nie ulegał wówczas zmianie. Zanotowany w naszych badaniach wzrost odsetka subpopulacji limfocytów CD8<sup>+</sup> może być związany z wiekiem uodpornianych ptaków.

U indyków w grupie II, między 3.–7. dniem po szczepieniu w HG wzrastał odsetek komórek B IgM<sup>+</sup>. Równocześnie od 3. dnia, ze szczytem między 7. a 14. dniem po szczepieniu, dochodziło do zwiększenia odsetka komórek B IgA<sup>+</sup>.

Biorąc pod uwagę stwierdzony równoczesny wzrost odsetka limfocytów T CD4<sup>+</sup> oraz wzrost liczby komórek B IgA<sup>+</sup> na terenie HG, możemy przypuszczać, iż komórki T CD4<sup>+</sup> poprzez wydzielane cytokiny przyczyniają się do wzrostu produkcji oraz wydzielania IgA anty-aMPV. Obecnie mało jednak wiadomo na temat roli IgA w odporności indyków zakażonych aMPV.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Liman M., Rautenschlein S., 2007. Induction of local and systemic immune reactions following infection of turkeys with avian Metapneumovirus (aMPV) subtypes A and B. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 115, 273–285.



## OTRZYMANIE REKOMBINOWANEGO BIAŁKA VP3 WIRUSA CHOROBY DERZSY'EGO (DDV)

### DEVELOPMENT OF VP3 RECOMBINANT PROTEIN OF DERZSY DISEASE VIRUS (DDV)

Karolina Tarasiuk, Grzegorz Woźniakowski, Elżbieta Samorek-Salamonowicz

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Chorób Wirusowych Drobiu, 24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57, e-mail: ktarasiuk@piwet.pulawy.pl

Choroba Derzsy'ego występująca u gęsi i kaczek piżmowych jest jednym z najistotniejszych problemów w intensywnej hodowli drobiu wodnego. Czynnikiem etiologicznym opisywanej jednostki jest wirus z rodziny *Parvoviridae*, rodzaju *Dependovirus*. Najbardziej wrażliwe są 1–7-dniowe gąsienki, u których śmiertelność może dochodzić nawet do 100%. W kraju od ponad 20 lat są prowadzone szczepienia ochronne gęsi stad reprodukcyjnych, a obecnie także stad towarowych. Stosowane są szczepionki „żywe” oparte na atenuowanych szczepach parwowirusa choroby Derzsy'ego oraz bivalentna szczepionka olejowa, w skład której wchodzi inaktywowany parwowirus gęsi i parwowirus kaczki piżmowej. Ze względu na zmienność wirusa wymagane są modyfikacje obecnie stosowanych szczepionek.

**Cel badań:** Otrzymanie rekombinowanego białka VP3 wirusa choroby Derzsy'ego, które będzie wykorzystane do opracowania nowej, rekombinowanej szczepionki oraz opłaszczenia płytek do testu ELISA.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowił terenowy szczep 24/03, wyizolowany z przypadku terenowego choroby Derzsy'ego. Wirus namnażano w hodowli fibroblastów zarodków gęsi (GEF), oceniając efekt cytopatyczny (CPE). Z zakażonych komórek izolowano całkowity, komórkowy DNA (Qiagen, USA), który wykorzystano do reakcji amplifikacji przy użyciu starterów zaprojektowanych na podstawie sekwencji genu kodującego białko VP3. Uzyskany produkt PCR pocięto przy użyciu enzymów restrykcyjnych i zmieszano *in vitro* z wektorem pET6-HN, uciętym tymi samymi restryktazami: *Sall* oraz *HindIII*. Otrzymane po trawieniu lepkie końce (ang. sticky ends) połączono przy udziale ligazy DNA faga T4. Hybrydowe cząsteczki DNA wprowadzono drogą transformacji do komórek biorcy (*E. coli* BL21 Rosseta). Klony wyselekcjonowano na odpowiednim podłożu, a prawidłową orientację insertu potwierdzono poprzez sekwencjonowanie. Oczyszczenie białka wykonano przy użyciu chromatografii metalopowinowactwa, a następnie wykonano elektroforezę białek w żelu poliakrylamidowym w obecności siarczanu dodecylu sodu (SDS-PAGE). Po barwieniu żelu przeprowadzono wizualizację żelu poliakrylamidowego.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie przeprowadzonej analizy ciężaru molekularnego białek rozdzielonych w SDS-PAGE stwierdzono obecność białka o oczekiwanej wielkości ok. 60 kDa. Proteina VP3 jest najliczniejszym białkiem kapsydu parwowirusa gęsi i ulega wydajniejszej ekspresji niż pozostałe białka strukturalne, tj. VP1, VP2 [1]. Obecnie stosowane szczepionki oparte są na namnażaniu wirusa choroby Derzsy'ego w hodowli z zarodków gęsi, co jest pracochłonne i drogie. Z uwagi na wysoką immunogenność opisywanego białka [2] i zmienność wirusa konieczne jest opracowanie nowej szczepionki, otrzymywanej w systemie ekspresyjnym *E. coli*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Zhang Y. et al., 2010. Development and evaluation of VP3-ELISA for the detection of goose and Muscovy duck parvovirus antibodies. *Journal of Virological Methods*. 163, 405–409.
- [2] Le Gall-Recule et al., 1996. Expression of muscovy duck parvovirus capsid proteins (VP2, VP3) in a baculovirus expression system and demonstration of immunity induced by the recombinant proteins. *J. Gen. Virol.*, 77, 2159–2163.



## WSPÓŁZALEŻNOŚCI WŁASNOŚCI MORFOLOGICZNYCH, DENSYTOMETRYCZNYCH I BIOMECHANICZNYCH KOŚCI RAMIENNEJ SAMCÓW GĘSI

### INTERRELATIONSHIPS BETWEEN MORPHOLOGICAL, DENSITOMETRIC AND BIOMECHANICAL PROPERTIES OF HUMERUS IN MALE GEESE

Marcin R. Tatar<sup>1</sup>, Dorota Niedziela<sup>2</sup>, Witold Krupski<sup>3</sup>, Paweł Rosenbeiger<sup>2</sup>, Tadeusz Studziński<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Fizjologii Zwierząt, ul. Akademicka 12, 20-950 Lublin, (²Wolontariat), e-mail: matatar@o2.pl

<sup>3</sup>Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Zakład Radiologii Lekarskiej, ul. Staszica 16, 20-081 Lublin

Schorzenia kośćca u drobiu wpływają negatywnie na dobrostan ptaków i stanowią istotny problem diagnostyczny, terapeutyczny i ekonomiczny w produkcji zwierzęcej. Mimo prowadzonych badań nad układem szkieletowym u różnych gatunków drobiu hodowlanego własności układu szkieletowego gęsi nie zostały dotychczas w pełni zbadane i opisane.

**Cel badań:** Określenie współzależności między parametrami morfologicznymi, densytometrycznymi i biomechanicznymi kości ramiennej samców gęsi w wieku 16 tygodni.

**Materiał i metody:** Prawe kości ramienne zostały pobrane od gęsi (n = 40) w wieku 108 dni, a następnie określono ich długość i masę. Używając metody ilościowej tomografii komputerowej i aparatu SOMATOM EMOTION SIEMENS (oprogramowanie Somaris/5 VB10B), określono objętościową gęstość mineralną (vBMD) istoty korowej kości ramiennej. Skany pomiarowe o grubości 2 mm stanowiły przekroje poprzeczne trzonu kości zlokalizowane w połowie jej długości. Oprogramowanie Volume evaluation zostało wykorzystane do wyznaczenia średniej objętościowej gęstości mineralnej całej kości (MvBMD) oraz jej objętości (Bvol). Na podstawie pomiarów średnic horyzontalnych i wertykalnych w połowie długości trzonu wyznaczono pole przekroju poprzecznego (A), wtórny moment bezwładności (Ix), średnią względną grubość ściany (MRWT) oraz wskaźnik korowo-trzonowy (WKT) kości ramiennej. Własności biomechaniczne kości, tj. maksymalną siłę sprężystą (Wy) i siłę krańcową (Wf) wyznaczono za pomocą trójpunktowego testu zginania w aparacie INSTRON 3367. Współczynnik korelacji Pearsona (r) został wyznaczony dla wszystkich zmiennych. Jako poziom statystycznej istotności przyjęto wartość  $P < 0,05$ .

**Wyniki i omówienie:** Długość kości ramiennej była pozytywnie skorelowana z jej masą, objętością, A, Ix i Wy ( $P < 0,05$ ). Masa kości uzyskała pozytywne korelacje z Bvol, vBMD, A, Ix, Wy i Wf ( $P < 0,05$ ). Badanie Bvol wykazało pozytywne korelacje z takimi parametrami jak vBMD, A, Ix, Wy i Wf ( $P < 0,05$ ). Pozytywne korelacje stwierdzono między MvBMD a vBMD, WKT, Wy i Wf ( $P < 0,05$ ). Wartości vBMD i A były pozytywnie skorelowane z MRWT, WKT, Wy i Wf ( $P < 0,05$ ). Stwierdzono także pozytywną korelację Ix z A i Wy oraz MRWT i WKT kości ramiennej ( $P < 0,05$ ). Ponadto, wartość Wy była pozytywnie skorelowana z MRWT, WKT i Wy ( $P < 0,05$ ).

**Dyskusja:** Uzyskane wyniki wykazały jedynie pozytywne korelacje w zakresie własności morfologicznych, densytometrycznych i biomechanicznych kości ramiennej gęsi. Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze obserwacje u innych gatunków zwierząt hodowlanych i doświadczalnych, gdzie wykazano korzystny wpływ wyższych wartości parametrów morfologicznych i gęstości mineralnej kości na wytrzymałość biomechaniczną kości. Konkludując, należy stwierdzić, że opracowany model metodyczny może zostać wykorzystany w badaniach nad wpływem czynników fizjologicznych, środowiskowych, żywieniowych, farmakologicznych i toksykologicznych na jakość układu szkieletowego kręgowców.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Krupski W., Tatar M.R., 2007. Interrelationships between densitometric, morphometric, and mechanical properties of the tibia in turkeys. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 51, 621–6.
- [2] Ferretti J.L. et al., 1993. Interrelationships between densitometric, geometric and mechanical properties of rat femora: inferences concerning mechanical regulation of bone modelling. J Bone Miner. Res., 8, 1389–95.
- [3] Tatar M.R. et al., 2011. Interrelationships between densitometric, morphometric, and mechanical properties of the femur in male polish merino sheep. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 55, 795–9.





## BADANIA MONITORINGOWE ZAKAŻEŃ MYKOPLAZMAMI U DROBIU

### SURVEILLANCE OF MYCOPLASMA INFECTION IN POULTRY

Grzegorz Tomczyk, Katarzyna Domańska-Blicharz, Olimpia Kursa, Anna Sawicka, Zenon Minta

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Drobiiu,  
Al. Partyzanów 57, 24-100 Puławy, e-mail: gtomczyk@piwet.pulawy.pl

Mykoplazmoza drobiu jest nadal przyczyną znacznych strat ekonomicznych w produkcji drobiarskiej [1, 2]. U drobiu grzebiącego (kury, indyki) przyczyną zachorowań są cztery gatunki mykoplazm: *Mycoplasma gallisepticum* (MG), *M. synoviae* (MS), *M. meleagridis* (MM) oraz *M. iovae* (MI). Pierwsze dwie mykoplazmy są chorobotwórcze dla obu gatunków drobiu, natomiast MM i MI tylko dla indyków. Powszechnie na podstawie skali zagrożenia epidemiologicznego problemem są właśnie zakażenia MG i MM. Mykoplazmoza drobiu jest chorobą podlegającą obowiązkowi rejestracji. W kraju zachodzi konieczność monitorowania stad kur i indyków.

**Cel pracy:** Ocena występowania zakażeń MG, MM i MS w krajowych stadach reprodukcyjnych kur i indyków w latach 2010–2011.

**Materiał i metody:** Badania prowadzono na terenie 5 województw o największym nasileniu produkcji drobiarskiej. Materiał do badań bakteriologicznych i PCR stanowiły wymazy pobrane ze szczeliny podniebiennej ptaków, jaja lub zamarłe zarodki (po 60/stado) oraz próbki krwi (po 60/stado) do badań serologicznych pobranych od tych samych ptaków, od których pobierano wymaz. Jaja i zarodki pobrano z części stad. Zbiorcze próbki (z 15 indywidualnych) posiewano na podłoża namnażająco–identyfikujące i/lub izolowano materiał genetyczny (DNA) mykoplazm [3]. Do izolacji mikrobiologicznej użyto podłoży płynnych i agaru PPLO. Badania metodami molekularnymi wykonano konwencjonalnym i real time-PCR. Próbkę surowic badano testem aglutynacji (SPA) i ELISA.

**Wyniki i omówienie:** Badaniem objęto województwa: śląskie, mazowieckie, warmińsko-mazurskie, wielkopolskie i lubuskie. Łącznie przebadano 499 stad kur i indyków (odpowiednio w 2010 r. – 245 stad i w 2011 r. – 254 stada). Przebadano ogółem 30 000 wymazów, 4 920 jaj i zamarłych zarodków oraz 13 380 próbek surowic. Obecność MG w wymazach stwierdzono tylko w jednym stadzie kur mięsnych (województwo mazowieckie) w roku 2010, natomiast w 2011 r. zakażenie MG wykazano w 1 stadzie kur (województwo śląskie) i w 1 stadzie indyków (województwo warmińsko-mazurskie). Dodatkowo w 5 stadach kur ras mięsnych: po 2 stada z woj. mazowieckiego i śląskiego oraz w 1 stadzie z woj. wielkopolskiego stwierdzono zakażenie MS. Nie odnotowano obecności czynnego zakażenia MM w badanych stadach indyków. Również nie stwierdzono zakażeń mykoplazmami w jajach i w zamarłych zarodkach. Wśród przebadanych serologicznie w 2010 r. stadach, obecność przeciwciał dla MG testem SPA wykazano w 9 stadach kur i jednym stadzie indyków oraz testem ELISA w 5 stadach kur i 4 indyków. Swoiste dla MM przeciwciała wykryto testem ELISA w 7 stadach indyków na 10 badanych. W 2011 r. na 173 badanych stad kur i indyków obecność przeciwciał dla MG stwierdzono w 27 stadach kur i w jednym stadzie indyków, u których wykryto dodatkowo przeciwciała swoiste dla MM. Powyższe wyniki wskazują na niewielki obecnie odsetek stad reprodukcyjnych zakażonych mykoplazmami, co stanowi znaczący postęp w zakresie uwalniania krajowej populacji tych ptaków od zakażeń MG i MM. Dodatnie wyniki badań serologicznych nie zostały potwierdzone badaniami mikrobiologicznymi i PCR, co wykluczało czynne zakażenia stad reprodukcyjnych. Wykazanie w stadach kur zakażenia MS może świadczyć o utrzymaniu się tego zarazka w krajowej populacji kur.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bradbury J.M., 1999. Patogeneza zakażeń mykoplazmami ptaków. Mat. konf. Mykoplazmozy drobiu. Puławy, 17–25.
- [2] Minta Z., Koncicki A., Tomczyk G., Krasnodębska-Depta A., Ramza J., 1998. Current status of turkey diseases in Poland – 1st Inter. Symp. On Turkey Diseases, Berlin 19-21<sup>st</sup> Feb., 120–128.
- [3] OIE Terrestrial Manual 2008. Chapter 2.3.5. Avian Mycoplasmosis, 482–496.





## WPŁYW ZAKAŻENIA INDYKÓW ADENOWIRUSEM KRWOTOCZNEGO ZAPALENIA JELIT I IMMUNOMODULACJI NA KSZTAŁTOWANIE SIĘ ODSETKA ŚLEDZIONOWEJ SUBPOPULACJI LIMFOCYTÓW T CD4<sup>+</sup> I CD8<sup>+</sup> SYNTETYZUJĄCYCH IFN-GAMMA W ODPOWIEDZI NA MITOGENY (BADANIA *IN VITRO*)

### EFFECT OF INFECTION WITH HEMORRHAGIC ENTERITIS VIRUS AND IMMUNOMODULATION IN TURKEYS ON THE DEVELOPMENT OF THE PERCENTAGE OF SPLENIC CD4<sup>+</sup> AND CD8<sup>+</sup> T LYMPHOCYTES SUBPOPULATIONS SYNTHETIZING IFN-GAMMA IN RESPONSE TO MITOGENS (*IN VITRO*)

Bartłomiej Tykałowski, Tomasz Stenzel, Marcin Śmiałek, Andrzej Koncicki

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Ptaków, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: bartekmozg@wp.pl

Użyty w doświadczeniach adenowirus krwotocznego zapalenia jelit indyków (HEV) jest drobnoustrojem powszechnie występującym i aktualnie odgrywającym dużą rolę w patologii tego gatunku drobiu w naszym kraju i na świecie. Krajowe izolaty tego wirusa należą do mało patogennych, jednak pomimo to silnie upośledzają humoralną i komórkową reaktywność układu immunologicznego u zakażonych nim indyków [1]. W związku z powyższym podjęto badania z zastosowaniem dwóch immunomodulatorów – syntetycznego methizoprinolu i naturalnych  $\beta$ -glukanów, zmierzające do oceny ich wpływu na syntezę w warunkach *in vitro* IFN- $\gamma$  przez limfocyty CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> wyizolowane ze śledzion indyków zakażonych HEV.

**Materiał i metody:** Eksperyment przeprowadzono łącznie na 280 indykach rzeźnych typu BIG-6 podzielonych na 14 równych grup, liczących po 10 indorów i 10 indyczek. W trzech doświadczeniach podawano indykom methizoprinol *per os* w dawce 200 mg/kg m.c. lub  $\beta$ -glukany w dawce 171 mg/kg paszy w różnych układach – przed, po lub przed i po zakażeniu wirusem HE. Indyki w grupach badanych zakażono w 42. dniu życia wirusem HE w dawce 10<sup>4.3</sup> EID<sub>50</sub>. Z uzyskanej zawiesiny komórek mononuklearnych, wyizolowanych z wycinków śledzion pobranych od trzech indyków z każdej grupy po 72, 120 i 168 godzinach od zakażenia eksperymentalnego przenoszono indywidualnie po 1 x 10<sup>6</sup> komórek do 24-dołkowych płytek hodowlanych i przygotowywano do dalszych oznaczeń metodą CFC (ang. Cytokine Flow Cytometry) zgodnie z opracowaną procedurą (2). Komórki badano za pomocą cytometru przepływowego FACSCanto II (BD). Akwizycji danych dokonano za pomocą specjalistycznego oprogramowania FACSDiva Software 6.1.3 (BD), nagrywając dla każdej próbki 30 000 zdarzeń. Natomiast analizę i określenie profilu cytokinowego badanych subpopulacji limfocytów przeprowadzono za pomocą programu FlowJo 7.5 (Tree Star).

**Wyniki i omówienie:** U wszystkich badanych indyków zarówno w subpopulacji limfocytów T CD4<sup>+</sup>, jak i CD8<sup>+</sup> znajdują się komórki syntetyzujące IFN- $\gamma$  w odpowiedzi na stymulację mitogenami. Najwyższe wartości odsetka komórek CD4<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> zanotowano w hodowlach komórek mononuklearnych wyizolowanych ze śledzion indyków po 120 godz., a najniższe po 72 godz. od ich zakażenia wirusem HE.

Methizoprinol stosowany przez 3 dni przed i/lub przez 5 dni po zakażeniu, a także  $\beta$ -glukany suplementowane przez 14 dni przed oraz 14 dni przed i 5 dni po zakażeniu eksperymentalnym wirusem HE istotnie zwiększały syntezę IFN- $\gamma$  przez limfocyty CD4<sup>+</sup> wyizolowane ze śledzion indyków (podczas ostrej fazy zakażenia) w odpowiedzi na stymulację mitogenami w hodowli *in vitro*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Koncicki A., 1996. Charakterystyka krajowych izolatów adenowirusa krwotocznego zapalenia jelit (HE) indyków i ocena sytuacji epizootycznej w Polsce. Rozprawa habilitacyjna. Acta Acad. Agricult. Tech. Olst. Veterinaria, 22, 1–43.
- [2] Tykałowski B., 2012. Wpływ methizoprinolu i  $\beta$ -glukanów na wybrane parametry odporności nieswoistej oraz na przebieg zakażenia adenowirusem krwotocznego zapalenia jelit (HEV) u indyków. Praca doktorska, UWM Olsztyn.



## CHARAKTERYSTYKA ZAKAŻEŃ BAKTERYJNYCH I WIRUSOWYCH U GOŁĘBI NA TERENIE DOLNEGO ŚLĄSKA

### CHARACTERISTICS OF BACTERIAL AND VIRAL INFECTIONS OF PIGEONS IN LOWER SILESIA

Anna Woźniak, Maciej Kuczkowski, Alina Wieliczko

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych,  
pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: anna.wozniak@up.wroc.pl

Zakażenia wirusowe oraz bakteryjne u gołębi pocztowych stanowią istotny problem w hodowli tych ptaków. Do najczęściej występujących chorób wirusowych gołębi należą: paramyksowiroza, cirkowiroza, adenowiroza oraz herpeswiroza, które w sezonie lęgowym oraz lotowania gołębi są przyczyną wielu strat w gołębnikach. W ostatnich latach coraz częściej stwierdzane są przypadki cirkowirozy oraz adenowirozy, które są przyczyną nasilonych upadków młodych gołębi, szczególnie w okresie ich pierwszych lotów. Bezpośredni kontakt gołębi zdrowych i zakażonych bezobjawowo podczas transportu sprzyja rozprzestrzenianiu się chorób wirusowych i bakteryjnych między ptakami.

**Cel badań:** Ocena sytuacji epizootycznej w stadach gołębi pocztowych na terenie Dolnego Śląska w zakresie występowania zakażeń bakteryjnych i wirusowych.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły wymazy z wola oraz próbki narządów wewnętrznych (wątroba, płuca, nerka, jelita) pobrane od 8 gołębi pocztowych z 26 różnych stad na terenie Dolnego Śląska. Materiał pochodził od gołębi w wieku od 6 miesiąca życia do 6 lat. Dostarczone do Kliniki Katedry Epizootiologii ptaki nie wykazywały objawów klinicznych choroby, a ich kondycja była dobra. Z przeprowadzonego wywiadu wynikało, że w sezonie letnim ptaki mogły przechodzić „zespół młodego gołębia” (YPDS – *Young Pigeon Disease Syndrome*). Badaniom bakteriologicznym poddano wszystkie stada, natomiast badania wirusologiczne przeprowadzono w 11 stadach gołębi pocztowych. W celu wykrycia DNA wirusów PiHV (Pigeon Herpesvirus), PiCV (Pigeon Circovirus) oraz FAdV (Fowl Adenowirus) wykorzystano reakcję multiplex PCR, natomiast do badań nad występowaniem RNA wirusa PPMV-1 (Pigeon Paramyxovirus) zastosowano technikę RT-PCR.

**Wyniki i omówienie:** Obecność DNA PiCV stwierdzono we wszystkich badanych stadach, zarówno u gołębi młodych, jak i dorosłych. Uzyskane wyniki korelują z wynikami otrzymanymi przez Todda i wsp. [1, 2], które dowiodły obecności tego wirusa w narządach i wymazach z kloaki u prawie 90% gołębi pocztowych. Obecność PiHV stwierdzono w jednym stadzie (9,1%), w próbce pobranej od jednego młodego gołębia. Wydaje się, że regularnie prowadzone szczepienia przeciwko herpeswirozie gołębi mogą być przyczyną tak niskiego odsetka wyników dodatnich. W pobranych próbkach nie wykazano obecności FAdV. Z badań przeprowadzonych w kierunku obecności PPMV-1 w stadach gołębi pocztowych wynika, że obecność tego wirusa stwierdzono w 6 z 11 badanych stad, co stanowiło 54,5%. Natomiast intensywność zakażenia w stadzie wahała się w granicach od 12,5 do 75%.

Na 26 przebadanych stad w 5 (19,2%), z pobranych od gołębi płuc, wyizolowano *Streptococcus* sp. gr. A, zaś w 4 stadach (15,4%) stwierdzono *Staphylococcus aureus* MSSA (MSSA –Methicillin Susceptible *S. aureus*). Ciekawe wyniki otrzymano analizując florę bakteryjną wola. Aż w 11 stadach (42,3%) z pobranych wymazów wyizolowano obficie *S. aureus* MSSA, przy czym żaden z gołębi nie wykazywał objawów stanu zapalnego wola. Gatunkiem bakterii najczęściej izolowanym z wątroby był *S. aureus* MSSA, który występował w aż 23,1% badanych stad (6 stad). W 2 stadach (7,7%) z próbek wątroby i jelit wyizolowano pałeczki *Salmonella* Typhimurium, natomiast w 3 stadach (11,5%), w próbkach jelit stwierdzono obecność pałeczek *Escherichia coli* szczep hemolityczny.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Todd D. et al., 2006. Detection of pigeon circovirus in cloacal swabs: implications for diagnosis, epidemiology and control. *Vet. Rec.*, 159: 314-317
- [2] Todd D. et al., 2002. Evaluation of polymerase chain reaction and dot blot hybridisation testing the diagnosis of pigeon circovirus infections. *Vet. Microb.*, 89, 1-16.



## DOBOWY RYTM ZAWARTOŚCI WYBRANYCH ZWIĄZKÓW INDOLOWYCH W SZYSZYNCIE GĘSI DOMOWEJ

### DIURNAL RHYTHM OF SOME INDOLE COMPOUNDS IN THE PINEAL ORGAN OF THE DOMESTIC GOOSE

Natalia Ziólkowska, Bogdan Lewczuk, Wojciech Petryński

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Histologii i Embriologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-713 Olsztyn, email: lewczukb@uwm.edu.pl

Szyszynka, za pośrednictwem wydzielanego hormonu – melatoniny, uczestniczy w regulacji wielu procesów fizjologicznych przebiegających w organizmie ptaków, takich jak dobowe rytmy aktywności lokomotorycznej i pobierania pokarmu oraz sezonowe zmiany aktywności rozrodczej i migracji. Szyszynka oddziałuje również na aktywność układu immunologicznego i systemu nieswoistej obrony organizmu, homeostazę termiczną oraz gospodarkę wapniową i węglowodanową. Synteza melatoniny w szyszynce obejmuje cztery etapy: 1) hydroksylację tryptofanu do 5-hydroksytryptofanu, 2) dekarboksylację 5-hydroksytryptofanu do serotoniny, 3) acetylację serotoniny do N-acetyloserotoniny oraz 4) metylację N-acetyloserotoniny do melatoniny. Z grupy związków indolowych w szyszynce obecne są również kwas 5-hydroksyindolooctowy, kwas 5-metoksyindolooctowy, 5-metoksytryptofol oraz 5-metoksytryptamina. Relacje ilościowe pomiędzy poszczególnymi związkami indolowymi i zmiany zawartości tych związków zachodzące w cyklu dobowym były badane dotychczas jedynie u niektórych gatunków gryzoni.

**Cel pracy:** Określenie zawartości wybranych związków indolowych o różnych porach dnia i nocy w szyszynkach gęsi utrzymywanych w warunkach oświetlenia 12L:12D.

**Materiał i metody:** Badania zostały przeprowadzone na gęsiach odchowywanych od wyklucia do wieku 14 tygodni w zwierzętarni Katedry Histologii i Embriologii w warunkach cyklu świetlnego 12L:12D. Podczas dnia (od 7.00 do 19.00) stosowano oświetlenie jarzeniowe o natężeniu 300 lx, w nocy zwierzęta przebywały w ciemności. Ptaki poddano eutanazji o godzinie 8.00, 10.00, 12.00, 14.00, 16.00, 18.00, 20.00, 22.00, 24.00, 2.00, 4.00 oraz 6.00. Wszystkie czynności związane z eutanazją ptaków i pobraniem szyszynki w nocy były wykonywane w całkowitej ciemności z użyciem noktowizora wyposażonego w emiter podczerwieni. Szyszynki bezpośrednio po pobraniu zamrażano i przechowywano w ultrazamrażarce w temperaturze  $-75^{\circ}\text{C}$ . Zawartość tryptofanu, 5-hydroksytryptofanu, serotoniny, N-acetyloserotoniny, melatoniny, 5-metoksytryptaminy, 5-metoksytryptofolu, kwasu 5-hydroksyindolooctowego, kwasu 5-metoksyindolooctowego oznaczono metodą HPLC z detekcją fluorymetryczną.

**Wyniki i omówienie:** Zawartość większości badanych związków indolowych w szyszynce gęsi wykazywała istotne zmiany w przebiegu cyklu dobowego. Największą amplitudę rytmu dobowego stwierdzono w przypadku N-acetyloserotoniny oraz melatoniny. Poziomy obu związków były najwyższe w drugiej połowie nocy, najniższe w drugiej połowie dnia. Stwierdzono statystycznie istotną zależność pomiędzy ilością N-acetyloserotoniny i melatoniny. Najwyższe poziomy serotoniny oraz kwasu 5-hydroksyindolooctowego obserwowano w drugiej połowie dnia. Niezależnie od pory doby zawartość serotoniny znacznie przewyższała poziomy jej pochodnych – N-acetyloserotoniny oraz melatoniny. W wielokrotnie mniejszych ilościach niż melatonina obecne były substancje uważane również za aktywne biologicznie – 5-metoksytryptamina oraz 5-metoksytryptofol. Zawartość kwasu 5-metoksyindolooctowego była bardzo niska.

W świetle uzyskanych wyników reakcja acetylacji serotoniny odgrywa kluczową rolę w generowaniu dobowego rytmu wydzielania melatoniny w szyszynce gęsi. Relacje ilościowe pomiędzy zawartością N-acetyloserotoniny oraz melatoniny wskazują, że proces metylacji N-acetyloserotoniny może limitować poziom syntezy melatoniny, ale nie odgrywa istotnej roli w generacji dobowego rytmu sekrecji melatoniny.

Badania wykonano w ramach grantu NN 308 069937.



## WYSTĘPOWANIE ZAKAŻEŃ WIRUSEM ZAKAŻNEGO ZAPALENIA MÓZGU I RDZENIA KRĘGOWEGO KURCZĄT W STADACH KUR OZDOBNYCH

### THE OCCURENCE OF INFECTIONS OF AVIAN ENCEPHALOMYELITIS VIRUS (AEV) IN BACKYARD FLOCKS

Artur Żbikowski, Piotr Szeleszczuk, Karol Pawłowski, Monika Łukasiewicz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Zakaźne zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego kurcząt (Avian Encephalomyelitis – AE) jest chorobą kurcząt, indyków, bażantów i przepiórek japońskich wywoływaną przez wirus należący do rodziny *Picornaviridae* [2]. W kraju brak jest szczegółowych informacji na temat występowania AE u kur ozdobnych. Przeglądy wykonane między innymi w Holandii [3] wskazują, że kury ozdobne powinny być brane pod uwagę jako możliwe źródło rozprzestrzeniania się chorób groźnych dla drobiu w intensywnej produkcji. Udział tych ptaków w wystawach i pokazach oraz szeroka wymiana materiału hodowlanego mogą stanowić poważne zagrożenie epizootyczne również dla wielkotowarowej produkcji drobiarskiej.

**Cel pracy:** Ocena stopnia rozprzestrzenienia zakażeń wirusem AE (Avian Encephalomyelitis Virus – AEV) w wybranych stadkach kur ozdobnych z użyciem testu ELISA i techniki RT-PCR.

**Materiał i metody:** Do badań wybrano 15 stad kur ozdobnych, różnych ras. Hodowle te były zlokalizowane na terenie województw lubelskiego i mazowieckiego. Liczebność stad wynosiła od 7 do 50 ptaków. W wywiadzie ustalono, że ptaki z tych stad nie szczepiono przeciwko żadnym chorobom wirusowym. W bliskim sąsiedztwie tych stad nie były zlokalizowane wielkotowarowe fermi drobiu. Ptaki z badanych stad prezentowano na licznych wystawach w kraju i za granicą, miały zatem kontakt z innymi ptakami z wielu hodowli. Nie jest wykluczone, że również z osobnikami, które były zakażone AE. W okresie pobierania próbek u żadnego ptaka z wybranych stad nie obserwowano klinicznych objawów chorobowych.

Materiał do badań pobierano od młodych ptaków, w wieku do 3 miesięcy, w okresie od sierpnia do października 2011 r. Od ptaków z każdego stada pobierano po 3–11 próbek krwi do suchych probówek Eppendorffa oraz wymazy z kloaki. Łącznie uzyskano 120 próbek krwi i wymazów. Z pobranych próbek krwi otrzymano surowicę, którą badano komercyjnym zestawem ELISA firmy Idexx (USA) zgodnie z procedurą podaną przez producenta. Surowice były badane w kierunku wykrycia przeciwciał przeciwko AEV. Wyniki analizowano za pomocą programu xChek ver. 3.3.

W celu identyfikacji wirusa AE z wymazów (z kloaki) od ptaków żywych izolowano RNA przy użyciu komercyjnego zestawu RNA Mini Plus (A&A Biotechnology, Polska), według procedury podanej przez producenta. Badanie RT-PCR wykonano zgodnie z danymi opracowanymi przez Xie i wsp. (5), z użyciem specyficznych par starterów amplifikowano fragment wielkości 619 bp.

**Wyniki i omówienie:** Wykorzystując technikę RT-PCR, nie udało się potwierdzić obecności materiału genetycznego wirusa AE w żadnej z badanych próbek.

Badanie serologiczne wykazało, że 46,7% badanych stad miało kontakt z wirusem AE. Średnie miano geometryczne przeciwciał wynosiło 103,1, a w 1 stadzie miano maksymalne wynosiło 5421. Duży był również współczynnik zmienności (%CV): średnio 101,8 (od 40,9 do 185,1). Ze 120 próbek zbadanych testem ELISA 11 było pozytywnych, co stanowi około 9,2%. Uzyskane wyniki są porównywalne z danymi piśmiennictwa [1, 3, 4] i potwierdzają obecność wirusa AE w populacji kur ozdobnych Lubelszczyzny i Mazowsza.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Christensen N.H., 2006. Serological survey of the infectious disease status of Old English Game fowl in the lower North Island, New Zealand. *N Z Vet. J.*, 54, 193–194.
- [2] Marvil P., Knowles N.J., Mockett A.P.A., Britton P., Brown T.D.K., Cavanagh D., 1999. Avian encephalomyelitis virus is a picornavirus and is most closely related to hepatitis A virus. *J. Gen. Virol.*, 80, 653–662.
- [3] Wit de J.J., van Eck J.H., Crooijmans R.P., Pijpers A., 2004. A serological survey for pathogens in old fancy chicken breeds in central and eastern part of the Netherlands. *Tijdschr Diergeneesk.*, 129, 324–327.
- [4] Wunderwald C., Hoop R.K., 2002. Serological monitoring of 40 Swiss fancy breed poultry flocks. *Avian Pathol.*, 31, 157–162.
- [5] Xie Z., Khan M.I., Girshick T., Xie Z., 2005. Reverse transcriptase-polymerase chain reaction to detect avian encephalomyelitis virus. *Avian Dis.* 49, 227–230.





**SEKCJA  
FIZJOLOGII I PATOLOGII  
ŚWIŃ**





# EFEKTYWNOŚĆ REPLIKACJI WIRUSA GRYPY PTASIEJ H1N1 U ŚWIŃ

## THE EFFECTIVENESS OF AVIAN INFLUENZA VIRUS H1N1 REPLICATION IN PIGS

Andrzej Kowalczyk

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57,  
24-100 Puławy, [Andrzej.kowalczyk@piwet.pulawy.pl](mailto:Andrzej.kowalczyk@piwet.pulawy.pl)

**Cel badań:** Próba adaptacji ptasiego szczepu wirusa grypy do organizmu świni oraz określenie czynników determinujących wydajność jego replikacji i ewentualnej transmisji.

**Materiał i metody:** Do badań użyto szczepami A/duck/Bawaria/77 będącego prototypem wirusów grypy świń podtypu H1N1 „avian-like”. Wykonano 17 seryjnych pasażów wirusa wykorzystując do tego celu 34 6–7-tygodniowe seronegatywne warchlaki (po 17 świń obu płci), które zakażano donosowo (dawka  $10^{6.4}$  TCID<sub>50</sub>/4 ml). Po zakażeniu codziennie przeprowadzano badanie kliniczne świń, z uwzględnieniem pomiaru w.c.c., ponadto przez 4 dni po zakażeniu (DPZ) od wszystkich zwierząt pobierano wymazy z nosa w celu wykrycia siewstwa wirusa testem Real Time PCR (konserwatywny gen M1). Za wyniki poniżej 30 wartości Ct (liczba cykli po których uzyskiwano sygnał obecności materiału genetycznego) uważano za dodatni, zaś powyżej za słabo dodatni. Zwierzęta poddawano eutanazji w 4DPZ i wykonywano badanie sekcyjne oraz molekularne próbek pobranych z całego układu oddechowego (nabłonek węchowy i oddechowy błony śluzowej nosa, tchawica, 7 płatów płuc). W trakcie 5., 10. i 15. pasażu oraz w przypadku stwierdzenia siewstwa wprowadzano świnię kontaktowe.

**Wyniki i omówienie:** Zarówno u zwierząt zakażanych bezpośrednio, jak i kontaktowych nie stwierdzono typowych objawów klinicznych grypy, nie mniej jednak w większości pasażów pomiędzy 2. a 3. DPZ rejestrowano podwyższenie w.c.c  $\geq 40^\circ\text{C}$ , szczególnie u loszek. Siewstwo w wymazach z nosa świń zakażanych eksperymentalnie stwierdzono wyłącznie w 8 pasażu. Pierwsze wyniki dodatnie uzyskano w pasażu 8. Dopiero od tego etapu zaczęto otrzymywać wartości Ct poniżej 30. Najwięcej wyników dodatnich w odniesieniu do próbek pobranych w czasie sekcji dotyczyło tchawicy i prawych płatów środkowych płuc. W uzyskanych izolatach pochodzących z pasażu 8. sekwencjonowaniem wykryto obecność pojedynczych mutacji w genach H, N, M oraz NP. W genie HA stwierdzono trzy mutacje w obrębie miejsca wiążącego z receptorem. U świń kontaktowych nie wykryto siewstwa oraz nie stwierdzono serokonwersji. Uzyskane wyniki wskazują, że adaptacja szczepu ptasiego do organizmu świni jest możliwa, ale w warunkach eksperymentalnych nie doszło do efektywnej transmisji wirusa w populacji świń. Na tej podstawie można stwierdzić, że bariera gatunkowa pomiędzy świnią i ptakami jest silniejsza niż wcześniej sądzono.

### Piśmiennictwo:

- [1] de Vleeschauwer A., van Poucke S., Braeckmans D., van Doorselaere J., van Reeth K., 2009. Efficient transmission of swine-adapted but not wholly avian influenza viruses among pigs and from pigs to ferrets. *J. Infect. Dis.*, 15, 1884–1892.



## WYSTĘPOWANIE ZAKAŻEŃ WIRUSEM BIEGUNKI WIRUSOWEJ BYDŁA (BVDV) U ŚWIŃ W POLSCE

## PREVALENCE OF INFECTION WITH BOVINE VIRAL DIARRHOEA VIRUS (BVDV) IN PIGS IN POLAND

Andrzej Lipowski

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Świń,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: lipowski@piwet.pulawy.pl

Wirus biegunki wirusowej bydła (BVD) obok wirusa klasycznego pomoru świń (CSF) i wirusa choroby granicznej owiec (BD) zaliczany jest do rodzaju *Pestivirus* w rodzinie *Flaviviridae*. Zatem diagnostyka różnicowa odgrywa niezwykle rolę ze względu na wynikające z niej skutki epizootologiczne i ekonomiczne. Rozpoznanie bowiem pomoru, zgodnie z obowiązującymi przepisami, powoduje wprowadzenie obowiązku całkowitej likwidacji stad zakażonych lub podejrzanych o zakażenie, a w skali międzynarodowej – zakaz eksportu żywych świń, wieprzowiny i produktów wieprzowych. W przeciwieństwie, wykrycie zakażenia trzody chlewnej wirusem BVD ma zazwyczaj znaczenie wyłącznie epizootologiczne bez skutków ekonomicznych.

**Cel badań:** Ocena występowania i rozprzestrzenienia zakażeń wirusem biegunki wirusowej bydła (BVD) u świń w Polsce.

**Materiał i metody:** Do badań użyto ogółem 14 608 surowic świń pochodzących z terenu całej Polski. Próbkę te badano wstępnie testem ELISA (POURQUIER® ELISA BVD/MD/BD P80 Antibodies Screening, Institut Pourquier, Francja), a następnie surowice, z którymi otrzymano wyniki wątpliwe i/lub dodatnie, badano w kierunku obecności przeciwciał neutralizujących wirus BVD zgodnie z wytycznymi załącznika technicznego do Decyzji Komisji 2002/106/WE.

**Wyniki i omówienie:** Z badań testem ELISA wynika, że serologicznie dodatnie świni wykryto w 14 (87,5%) spośród 16 województw. Odsetek seroreagentów wahał się w zależności od województwa od 0,08% w woj. podkarpackim do 1,89% w woj. warmińsko-mazurskim i wyniósł średnio 0,73%. Analizując uzyskane wyniki dodatnie i wątpliwe razem, średni odsetek świń podejrzanych o zakażenie wirusem BVD, obecnych aż w 15 (93,75%) województwach, wyniósł średnio 1,37% i wahał się od 0,16% w woj. podkarpackim do 2,8% w woj. zachodnio-pomorskim. Rezultaty powyższe winny być jednak traktowane z dużą ostrożnością, ze względu na możliwość uzyskania w testach ELISA wyników fałszywie dodatnich i/lub wątpliwych wypaczających rzeczywistą sytuację epizootyczną w omawianym zakresie. W celu weryfikacji otrzymanych rezultatów wykonano, z wymienionymi wyżej próbkami surowic, badania odczynem seroneutralizacji. Jak z nich wynika, średni odsetek świń zakażonych wirusem BVD wyniósł 0,31% i wahał się od 0,1% w woj. dolnośląskim do 1,04% w woj. mazowieckim. Obecność seroreagentów stwierdzono w 11 (68,75%) województwach. Podsumowując uzyskane w niniejszej pracy wyniki, należy je porównać z rezultatami podobnych badań przeprowadzonych w Polsce w latach 80. i 90. ubiegłego wieku. Wykazano w nich, że średni odsetek seroreagentów wynosił odpowiednio 0,3 i 0,4%. Nieco wyższy odsetek seroreagentów, wynoszący 0,7%, podaje Rypuła. Po wyższe wartości są zdecydowanie niższe od stwierdzanych na przestrzeni ostatnich 20 lat w Europie Zachodniej, gdzie występowanie przeciwciał dla wirusa BVD u świń wahało się od 1,6 do 43,5% badanego поголовья trzody chlewnej w danym kraju.

Podsumowując całość przeprowadzonych badań, można wyrazić opinię, że stopień zakażenia wirusem BVD krajowego поголовья świń jest niski. Wpływ na to ma niewątpliwie specjalizacja produkcji zwierzęcej, w tym oddzielenie chowu świń od chowu bydła.



## WYSTĘPOWANIE ZAKAŻEŃ WIRUSAMI GRYPY ŚWIŃ W POLSCE

### OCCURENCE OF INFECTIONS WITH SWINE INFLUENZA VIRUS IN POLAND

Iwona Markowska-Daniel

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Świń,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: iwonamd@piwet.pulawy.pl

Grypa świń (swine influenza, SI) wpisuje się w problematykę weterynaryjnej ochrony zdrowia publicznego. Potrzeba monitorowania sytuacji epidemiologicznej w zakresie SI wynika zarówno z różnorodności genetycznej SIV oraz ich potencjału zoonotycznego, jak i konsekwencji ekonomicznych choroby.

**Cel badań:** Ocena i analiza sytuacji epidemiologicznej krajowych stad świń w zakresie SI, w latach 1999–2012, na podstawie analizy serokonwersji dla różnych podtypów SIV oraz wirusologicznej i molekularnej charakterystyki krajowych izolatów SIV.

**Materiał i metody:** W badaniach serologicznych wykorzystano 39 378 surowic świń uzyskanych w zakładach mięsnych na terenie 16 województw; 1477 surowic dzików oraz 534 surowice ludzkie, pozyskane od lekarzy i pracowników obsługi. Do określenia poziomu serokonwersji stosowano test HI.

Do badań wirusologicznych oraz molekularnych wykorzystano 1212 próbek (1066 wymazów z nosa, 146 wycinków płuc) od świń chorujących z objawami grypopodobnymi, pobranych w 120 fermach zlokalizowanych w 13 województwach, dodatkowo w przypadku wystąpienia poronień w przebiegu grypy badano płuca poronionych płodów. Do namnażania wirusów wykorzystywano zarodki kurze SPF oraz hodowlę komórek MDCK. Badania molekularne obejmowały identyfikację wirusa opierając się na konserwatywnym genie M1 (RT Real Time PCR), określeniu podtypu (multiplex PCR) oraz pokrewieństwie genetycznym izolatów.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że wszystkie trzy podtypy SIV występują u znacznego odsetka świń w Polsce, w niektórych stadach występują zakażenia mieszane wywołane przez różne podtypy antygenowe SIV. Analiza sytuacji epidemiologicznej w latach 1999–2012 wskazuje na dominację podtypu H1N1 oraz sukcesywny wzrost odsetka surowic dodatnich, w ostatnich latach zwłaszcza w odniesieniu do H1N2 i H3N2.

Największy odsetek badanych surowic charakteryzował się relatywnie niskim mianem, co sugeruje kontakt świń z SIV i potwierdza możliwość endemicznego utrzymywania się zakażeń, bez wyraźnych objawów chorobowych. Porównując wyniki własne z sąsiadującymi z Polską krajami, w których prowadzony jest intensywny chów świń, można stwierdzić, że aktualnie sytuacja w zakresie SI w kraju jest zbliżona do obserwowanej w innych państwach Europy, aczkolwiek poziom serokonwersji jest u nas nieco niższy.

Wyniki badania surowic ludzkich potwierdzają zoonotyczny charakter zakażeń SIV, natomiast wyniki badania surowic dzików sugerują ich udział jako rezerwuaru wirusa. Ponadto wykazano możliwość transplacentalnej transmisji SIV.

Wśród pozyskanych 62 izolatów SIV 58 reprezentuje podtyp H1N1, co potwierdza jego dominację w krajowej populacji świń, po 2 izolaty należą do podtypów H3N2 i H1N2. Analiza filogenetyczna wykazała 100% identyczność izolatów pochodzących z 1 ogniska. Homologia wśród sekwencji H1 izolatów krajowych wynosi 91,8–100%. Polskie izolaty są pokrewne ze szczepami krążącymi aktualnie w Europie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Markowska-Daniel I., Pejsak Z., 1999. Rozprzestrzenienie zakażeń wirusem grypy w populacji świń i dzików w Polsce. *Med. Wet.*, 55, 302–305.
- [2] Markowska-Daniel I., Pejsak Z., 2001. Przypadek ostrej grypy świń w fermie wielkotowarowej. *Med. Wet.*, 57, 178–182.
- [3] Markowska-Daniel I., Kowalczyk A., Pejsak Z., 2009. First case of the isolation of H3N2 swine influenza virus in Poland. *Bull. Vet. Inst. Puławy*, 53, 327–331.
- [4] Kowalczyk A., Markowska-Daniel I., 2010. Phylogenetic analysis of swine influenza viruses isolated in Poland. *P. J. Vet. Sci.*, 13, 37–44.

Praca finansowana ze środków UE – FP7 projekt ESNIP-3 N° 259949.





## CHLAMYDIOZY W POLSCE, Z UWZGLĘDNIENIEM BADAŃ WŁASNYCH

## CHLAMYDIA INFECTION IN POLAND

Krzysztof Niemczuk

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Bydła,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: kniem@piwet.pulawy.pl

Problematyka zakażeń powiązanych z występowaniem chlamydii jest bardzo szeroka – od zapalenia spojówek, poprzez zapalenia płuc, zmiany zapalne w obrębie przewodu pokarmowego, gruczołu mlekowego czy stawów, a także przypadki *encephalomyelitis*, *pericarditis*, do poważnych zaburzeń w rozrodcie, pociągających za sobą ogromne straty ekonomiczne.

**Materiał i metody:** Metodą do rozpoznawania chlamydiozy, zalecaną przez Międzynarodowe Biuro ds. Epizootii (OIE), jest odczyn wiązania dopełniacza (OWD). W latach 2008–2010 w PIW-PIB w Puławach ocenie w kierunku obecności przeciwciał przeciwko *Chlamydia spp.* poddano ponad 61 000 surowic.

**Wyniki i omówienie:** Odsetek seroreagentów dodatnich w latach 2008, 2009 i 2010 wynosił odpowiednio 0,4, 0,47 i 1,65%. Za wynik dodatni przyjmowano rozcieńczenie badanej surowicy od 1/8 do 1/16. Wykorzystując materiał biologiczny pochodzący od świń, które uzyskały wynik dodatni, wykonywano badanie techniką PCR, w celu wykazania zależności pomiędzy zastosowaną metodą serologiczną a metodą potwierdzającą. Zależność tę oceniano testem  $\chi^2$ , a uzyskana wartość wynosiła 29,83, co daje podstawy do stwierdzenia, że porównywane metody są zależne i dają istotnie zgodne wyniki.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Eggemann G., Wendt M., Hoelzle L.E., Jaeger C., Weiss R., Falling K., 2000. Prevalence of Chlamydia infections in breeding sows and their importance in reproductive failure. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 107, 3–10.
- [2] Schautteet K., Vanrompay D., 2011. Chlamydiaceae infections in pigs. Vet. Res., 42, 29.



## CHARAKTERYSTYKA I ZWALCZANIE ZAKAŻEŃ CIRKOWIRUSOWYCH

### CHARACTERISTICS AND CONTROL OF INFECTIONS WITH PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2

Katarzyna Podgórska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Świń,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: katarzyna.podgorska@piwet.pulawy.pl

Cirkowirus świń typu 2 (porcine circovirus type 2 – PCV2) występuje powszechnie w populacji świń, wywołując głównie zakażenia subkliniczne. Jednak w przypadku jednoczesnej stymulacji układu immunologicznego poprzez dodatkowe, zakaźne lub niezakaźne czynniki, ujawniają się immunosupresyjne właściwości PCV2, co może prowadzić do wystąpienia szeregu chorób świń określanych wspólnie jako cirkowiroza (porcine circovirus associated disease – PCVD). Jedną z najbardziej istotnych chorób z tej grupy jest poodzadzeniowy wielonarządowy zespół wyniszczający (postweaning multisystemic wasting syndrome – PMWS). Udowodniono również możliwość udziału PCV2 w zaburzeniach rozrodczych.

W Polsce PMWS został zdiagnozowany po raz pierwszy w 2000 r. Badania 32 polskich ferm z objawami klinicznymi sugerującymi występowanie syndromu (postępujące wychudzenie, bledność skóry, powiększenie węzłów chłonnych) przeprowadzone w 2007 r. wykazały, że w 50% z nich występował PMWS. Sekwencjonowanie i analiza filogenetyczna wykazały, że u świń w Polsce występuje PCV2 typu a, uważany za bardziej zjadliwy w porównaniu z typem b. Wyższą zmienność wirusa zaobserwowano w populacji dzików w Polsce, gdzie występowały obydwa podtypy. Wstępne badania przeprowadzone w fermach w Polsce wykazały, że w indukowaniu PMWS może mieć udział zakażenie wirusem zespołu rozrodczo-oddechowego świń, nie potwierdzono natomiast udziału parwowirusa świń typu 1.

Diagnostykę laboratoryjną PMWS komplikuje fakt, że PCV2 powoduje powszechne występowanie zakażeń subklinicznych w populacji świń. Rekomendowaną obecnie metodą jest badanie histopatologiczne oraz jednoczesne badanie metodą immunohistochemiczną lub hybrydyzacji *in situ* wycinków węzłów chłonnych. Badania wykazały, że u świń z PMWS poziom wirusii po zakażeniu PCV2 jest znacznie wyższy, natomiast produkcja przeciwciał jest opóźniona, a ich poziom w początkowym etapie zakażenia niższy. Wskazuje to na potencjalną możliwość zastosowania metod serologicznych i ilościowej metody PCR lub ich kombinacji w rozpoznawaniu PMWS, jednak metody te mogą być stosowane jedynie do diagnostyki syndromu na poziomie stada, z uwzględnieniem odpowiedniej ilości próbek. Konieczne jest także potwierdzenie wyników dodatnich metodami *in situ*. Metody serologiczne są również użyteczne w ocenie skuteczności immunoprofilaktyki swoistej przeciwko PCVD.

Obecnie dostępne są na rynku wysokiej skuteczności szczepionki przeciwko PCV2, które pozwalają na ograniczenie występowania objawów klinicznych i strat związanych z zakażeniami tym wirusem. Badania przeprowadzone na fermach w Polsce wykazały, że zarówno szczepienia loch, jak i prosiąt przyniosły znaczną poprawę parametrów produkcyjnych, jednak w celu uzyskania optymalnych efektów należy dostosować program profilaktyki swoistej do postaci PCVD obserwowanej w danej fermie [5]. W przypadku średnich dobowych przyrostów masy ciała zaobserwowano poprawę nie tylko w stosunku do okresu, w którym występował PMWS, ale także w porównaniu z poziomem sprzed wystąpienia syndromu. Może to pośrednio wskazywać na negatywny wpływ subklinicznych zakażeń PCV2 na zdrowie świń.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Podgórska K., Stadejek T., Szczotka A., Kozaczyński W., Porowski M., Pejsak Z., 2009. Występowanie poodzadzeniowego wielonarządowego zespołu wyniszczającego w krajowej populacji świń. Med. Wet. 65:5, 375–379.
- [2] Podgórska K., Stadejek T., 2011. Porcine circovirus type 2 viremia and seroconversion in pigs from a farm affected by postweaning multisystemic wasting syndrome. Pol. J. Vet. Sci. 14:4, 667–669.



## WPŁYW PRZECIWCIAŁ MATCZYNYCH ORAZ WIEKU ZWIERZĄT NA ROZWÓJ I UTRZYMYWANIE SIĘ ODPORNOŚCI POSZCZEPIENNEJ U ŚWIŃ

### THE INFLUENCE OF MATERNAL ANTIBODIES AND AGE ON THE DEVELOPMENT AND PERSISTENCE OF POSTVACCINAL IMMUNITY IN PIGS

Małgorzata Pomorska-Mól

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Świń, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mpomorska@piwet.pulawy.pl

Układ immunologiczny prosięcia-noworodka jest odmienny nie tylko morfologicznie, ale także pod względem funkcjonalnym od układu immunologicznego dorosłego osobnika. Osiągnięcie dojrzałości własnego układu immunologicznego następuje u prosiąt w okresie okołoodsadzeniowym. Z tego powodu, a także ze względu na obecność przeciwciał laktogennych, szczepienie młodych zwierząt może być wyzwaniem dla lekarza weterynarii.

**Cel badań:** Ocena wpływu wieku oraz przeciwciał laktogennych na humoralną i komórkową odpowiedź immunologiczną u świń po szczepieniu wybranymi szczepionkami atenuowanymi i inaktywowanymi.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 50 lochach i ich potomstwie. Połowa loch została zaszczepiona szczepionką badaną w danym etapie. W doświadczeniach wykorzystano szczepionki: przeciwko chorobie Aujeszky'ego i różycy (żywe) oraz przeciwko grypie świń i chorobie Glässera (inaktywowane). Prosięta urodzone przez szczepione (seropozytywne) i nieszczepione (seronegatywne) matki zostały podzielone na grupy i zaszczepione w różnym wieku. Wyodrębniono także grupy kontrolne (nieszczepione).

Do określenia poziomów przeciwciał stosowano komercyjne testy ELISA lub test zahamowania hemaglutynacji. Do oceny odpowiedzi komórkowej zastosowano test proliferacji limfocytów, immunofenotypowanie, a także ocenę sekrecji wybranych cytokin pod wpływem stymulacji badanym antygenem *in vitro*.

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone badania wykazały, że przeciwciała matczyne (MDA) utrzymują się w surowicy prosiąt, w zależności od użytej szczepionki, przez okres od 4. do 14. tygodnia życia. Stwierdzono, że MDA mogą zakłócać lub uniemożliwiać aktywną poszczepienną odpowiedź humoralną, a także – choć w mniejszym stopniu – komórkową. Część prosiąt z wysokim poziomem MDA w momencie szczepienia, po zastosowaniu szczepionki zawierającej żywy atenuowany antygen, była zdolna do wykształcenia przynajmniej krótkotrwałej swoistej odpowiedzi komórkowej, nawet po jednej dawce szczepionki. Można sądzić, że wczesny priming limfocytów T w obecności MDA jest możliwy, jednak wyniki badań wskazują, że zdolność do rozpoznania antygeny i proliferacji w warunkach *in vitro* była krótkotrwała, a do osiągnięcia długotrwałej odpowiedzi komórkowej niezbędna może być przypominająca dawka szczepionki. Nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy wartościami indeksu stymulacji w grupach szczepionych i nieszczepionych, po zastosowaniu szczepionek inaktywowanych, niezależnie od statusu immunologicznego zwierząt.

Obserwowano istotny wpływ wieku zwierząt w momencie szczepienia na odpowiedź poszczepienną (powstawanie oraz czas trwania), zwłaszcza humoralną. W przypadku szczepienia prosiąt w pierwszych 4–6 tygodniach życia poziom przeciwciał poszczepiennych był istotnie niższy niż u zwierząt szczepionych w późniejszym wieku ( $p \leq 0,05$ ). Przeciwciała te ponadto utrzymały się krócej niż u zwierząt szczepionych w późniejszym wieku.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Pomorska-Mól M., 2010. Evaluation of humoral and T-cell responses after vaccination of pigs against pseudorabies in the presence of maternal antibodies. *Vet. Microbiol.*, 144, 450–454.
- [2] Pomorska-Mól M., 2011. Effect of maternal antibodies and pig age on the antibody response after vaccination against Glässer disease. *Vet. Res. Commun.*, 35, 337–43.
- [3] Markowska-Daniel I, Pomorska-Mól M., 2011. The influence of age and maternal antibodies on the postvaccinal response against swine influenza viruses in pigs. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 142, 81–86.



## PRAKTYCZNE ASPEKTY POSTĘPOWANIA WETERYNARYJNEGO W STADACH ŚWIŃ ZAKAŻONYCH JEDNOCZEŚNIE WIRUSAMI GRYPY I PRRS

### PRACTICAL ASPECTS IN VETERINARY TREATMENT IN SWINE HERDS WITH SIV AND PRRSV INFECTION

Marian Porowski<sup>1</sup>, Michał Porowski<sup>2</sup>, Mateusz Porowski<sup>2</sup>, Jacek Żmudzki<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Vet-Com, 10-237 Olsztyn, ul. Jagiellońska 71

<sup>2</sup>Prywatna Praktyka Weterynaryjna Animal, 62-010 Pobiedziska

<sup>3</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Świń, 24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57

Wirus grypy świń (Swine Influenza Virus – SIV) oraz wirus zespołu rozrodczo-oddechowego świń (Porcine Respiratory and Reproduction Syndrome Virus – PRRSV) są ważnymi patogenami związanymi z chorobami zespołu oddechowego świń (Porcine Respiratory Disease Complex – PRDC). PRDC jest, z ekonomicznego punktu widzenia, zaburzeniem układu oddechowego charakteryzującym się zmniejszonymi przyrostami masy ciała oraz przyswajalnością paszy, osłabieniem, brakiem apetytu, gorączką, kaszlem i dusznościami, a w konsekwencji stratami zwierząt. Infekcjom wirusowym zazwyczaj towarzyszą koinfekcje bakteryjne komplikujące zapalenie płuc u świń. Bakteryjne zapalenie płuc powinno być traktowane jako problem złożony, wywołany obecnością patogenów, a także złym środowiskiem i niewłaściwym zarządzaniem. Tematem niniejszego artykułu są weterynaryjne aspekty postępowania w stadach świń zakażonych jednocześnie wirusami grypy i PRRS oraz metody zwalczania infekcji spowodowanych tymi patogenami. Do kluczowych komponentów procesu kontroli i eliminacji PRRSV i SIV ze stada należy jego zamknięcie oraz przestrzeganie surowych procedur obejmujących między innymi następujące zasady: pozostawianie prosiąt przy matce przynajmniej przez 6–8 godzin, nietworzenie miotów selekcyjnych z prosiąt pochodzących od loch z różnych grup technologicznych, przestrzeganie zasady całe pomieszczenie pełne/całe pomieszczenie puste, przestrzeganiu szeroko pojętej zasady mycia i dezynfekcji oraz zmiany igieł podczas zabiegów pomiędzy każdym miotem, poddawaniu eutanazji prosiąt, które nie rokują wyzdrowienia oraz nieprzenoszenie odchodów loch pomiędzy sektorami. Dodatkowo podczas eliminacji PRRSV i SIV należy wprowadzić optymalny program szczepień, obejmujący immunizację loszek i prosiąt oraz program szczepień masowych. Kluczem do sukcesu jest systematyczna, okresowa diagnostyka i ocena wyników mająca na celu określenie, czy wprowadzone sposoby postępowania będą miały wpływ na wydajność produkcyjną i ekonomiczną fermę. W związku z pojawieniem się rosnących zagrożeń i problemów związanych z PRDC konieczne jest innowacyjne podejście lekarzy weterynarii, obejmujące stosowanie nowych technik i metod postępowania opartych na najnowszej wiedzy.

#### Piśmiennictwo

- [1] Dee S.A., Molitor T.W., 1998. Elimination of porcine reproductive and respiratory syndrome virus using a test and removal process. *Vet. Rec.*, 143, 474–476.
- [2] Galina L., Pijoan C., Sitjar M., Christianson W.T., Rossow K., Collins J.E., 1994. Interaction between *Streptococcus suis* serotype 2 and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in specific pathogen-free piglets. *Vet. Rec.*, 134, 60–64.
- [3] Lawson S.R., Rossow K.D., Collins J.E., Benfield D.A., Rowland R.R., 1997. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection of gnotobiotic pigs: sites of virus replication and co-localization with MAC-387 staining at 21 days post-infection. *Virus Res.* 5, 105–113.
- [4] van Reeth K., Nauwynck H., Pensaert M., 1996. Dual infections of feeder pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus followed by porcine respiratory coronavirus or swine influenza virus: a clinical and virological study. *Vet Microbiol.* 48, 325–333.



## TRZODA CHLEWNA – GŁÓWNY REZERWUAR I ŹRÓDŁO ZAKAŻENIA *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

### PIGS AS A MAIN RESERVOIR AND SOURCE OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* INFECTION

Aleksandra Platt-Samoraj

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: platt@uwm.edu.pl

*Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*) jest Gram-ujemną pałeczką należącą do rodziny *Enterobacteriaceae*. Bakterie są szeroko rozpowszechnione w środowisku na całym świecie, zwłaszcza w krajach o umiarkowanym i chłodnym klimacie. Drobnoustroj ten może być przyczyną jersiniozy, choroby zakaźnej układu pokarmowego, przebiegającej niekiedy w formie pozajelitowej i ogólnej.

Epidemiologia jersiniozy jest złożona i nie do końca wyjaśniona. Wiadomo, że naturalnym rezerwuarem pałeczek *Y. enterocolitica* są zwierzęta domowe oraz wolno żyjące. Uznano, że głównym rezerwuarem szczepów patogennych dla człowieka jest trzoda chlewna. Drobnoustroje powszechnie występują w jamach ustnej i nosowej świń. Po wnikięciu drogą pokarmową do organizmu świni bakterie kolonizują migdałki podniebienne i błonę śluzową jelita, powodując długotrwałe, przeważnie bezobjawowe nosicielstwo. Zakażenie świń jest zjawiskiem częstym, o czym świadczą liczne publikacje z całego świata. Konsekwencją zakażenia jest powszechne wśród trzody chlewnej siewstwo drobnoustroju z kałem. Wydalanie bakterii przez zakażone zwierzęta może być intensywne i długotrwałe, czasem trwające wiele miesięcy. Zanieczyszczone pałeczkami *Y. enterocolitica* środowisko stanowi wtórne źródło zakażenia dla licznych gatunków zwierząt oraz człowieka. Drobnoustroje izolowano od prawie wszystkich występujących w Europie gatunków domowych i dzikich ssaków, a nawet ptaków. Niektóre z nich, jak np. gryzonie, mogą być też mechanicznym wektorem, przyczyniając się do rozprzestrzenienia tego drobnoustroju na dalekie odległości. O ile nie wszystkie zakażone świny są siewcami *Y. enterocolitica*, to zjawisko nosicielstwa w następstwie zakażenia jest niemal regułą. Efektem tego jest zanieczyszczenie tusz wieprzowych podczas uboju i przetworów mięsnych z wieprzowiny. Konsumpcja produktów spożywczych zanieczyszczonych tymi bakteriami jest główną przyczyną jersiniozy.

Zakażeniu ulegają wszystkie grupy wiekowe świń, lecz za najbardziej podatne na zakażenie uważane są świny w fazie tuczu. Doświadczalne próby uwolnienia stad od *Y. enterocolitica* nie powiodły się, głównie z powodu szerokiej możliwości krążenia bakterii w przyrodzie.

Istotną rolę w zapobieganiu jersiniozie odgrywa unieszkodliwienie źródła zakażenia, jakim są gryzonie. Należy też chronić tusze świńskie przed zanieczyszczeniem zawartością jelit i jamy ustnej podczas rozbioru. Ważną rolę odgrywa kontrola stanu sanitarnego żywności, okresowa deratyzacja, odkażanie chłodni. Mrożona żywność powinna być poddana obróbce termicznej. Istotne znaczenie ma również odpowiednie składowanie i zabezpieczenie nawozu. Zapobiec jersiniozie można, nie spożywając surowego lub niedogotowanego mięsa wieprzowego i, jak w przypadku wszystkich chorób jelitowych, poprzez przestrzeganie higieny osobistej, zwłaszcza mycie rąk po kontaktach ze zwierzętami i pobycie w chlewni.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bottone E.J., 1999. *Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates. *Microbes Infec.* 1, 323–333.
- [2] Bowman A.S., Glendening C., Wittun T.E., LeJeune J.T., Stich R.W., Funk J.A., 2007. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in different phases of production on swine farms. *J. Food Prot.*, 70, 11–16.
- [3] Gurtler M., Alter T., Kasimir S., Fehlhaber K., 2005. Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in fattening pigs. *J. Food Prot.*, 68: 850–854.
- [4] Kapperud, G., 1991. *Yersinia enterocolitica* in food hygiene. *Int. J. Food Microbiol.*, 12, 53–66.
- [5] Wauters G., 1979. Carriage of *Yersinia enterocolitica* serotype 3 by pigs as a source of human infection. *Contrib. Microbiol. Immunol.*, 5, 249–252.





## UDZIAŁ CIRKOWIRUSA TYPU 2 (PCV2) W ETIOLOGII BIEGUNEK ŚWIŃ PO ODSADZENIU

### OCCURENCE OF PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2 (PCV2) IN POSTWEANING PIGS WITH DIARRHOEA

Anna Szczotka, Jacek Żmudzki, Katarzyna Podgórska, Tomasz Stadejek, Zygmunt Pejsak

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Świń,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: anna.szczotka@piwet.pulawy.pl

**Cel badań:** Ocena udziału cirkowirusa typu 2 (PCV2) w przypadkach biegunek u świń po odsadzeniu oraz roli PCV2 w wywoływaniu zapalenia jelit. W rozpoznaniu różnicowym uwzględniono identyfikację bakterii wywołujących biegunki u świń w podobnym wieku: *Lawsonia intracellularis* (*L. intracellularis*) oraz *Brachyspira hyodysenteriae* (*B. hyodysenteriae*).

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły narządy wewnętrzne i kał od 76 świń w wieku 5–19 tygodni, pochodzących z 50 gospodarstw, w których stwierdzono PMWS lub zaobserwowano objawy sugerujące chorobę. Wycinki węzłów chłonnych oraz jelit (jelita biodrowego, ślepego, okrężnicy) poddano analizie pod kątem obecności DNA PCV2 metodą hybrydyzacji *in situ* (ISH). Wycinki narządów wewnętrznych barwiono hematoksyliną i eozyną (HE) i poddawano ocenie mikroskopowej. Próbkę kału badano testem real-time PCR pod kątem obecności *B. hyodysenteriae* i *L. intracellularis*.

**Wyniki i omówienie:** Metodą ISH w wycinkach tkanek pochodzących od 37. świń w wieku 10–17 tygodni stwierdzono intensywne zabarwienie, świadczące o dużej ilości DNA PCV2, typowe dla PMWS. W tej grupie w próbkach od 19 świń znaczną ilość PCV2 zidentyfikowano również w wycinkach jelit. U pozostałych 18 zwierząt, u których zidentyfikowano PCV2 w węzłach chłonnych, nie wykazano obecności wirusa w wycinkach jelit. W próbce pochodzącej od 1 świni metodą ISH nie stwierdzono PCV2 w węzłach chłonnych, natomiast zidentyfikowano znaczną ilość wirusa w jelicie biodrowym. W wycinkach węzłów chłonnych barwionych HE zaobserwowano zmiany histopatologiczne typowe dla PMWS. Podobne zmiany zidentyfikowano w wycinkach jelita biodrowego, gdzie stwierdzono znaczną ilość PCV2. W 45 próbkach jelit metodą real-time PCR nie wykazano *B. hyodysenteriae* ani *L. intracellularis*. DNA *L. intracellularis* zidentyfikowano w próbkach kału od 3 świń, natomiast mieszane zakażenie z udziałem obu wyżej wymienionych bakterii potwierdzono w materiale od 3 zwierząt. Uzyskane wyniki badań wskazują, że u świń chorych na PMWS w węzłach chłonnych oraz jelicie biodrowym obserwuje się zbliżone zmiany histopatologiczne, a ich występowanie jest skorelowane z występowaniem objawów klinicznych choroby (wyniszczenie, biegunka). Obecność PCV2 w jelicie biodrowym u świń wolnych od PMWS może być związana z występowaniem biegunek.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Stadejek T., Podgórska K., Kołodziejczyk P., Bogusz R., Kozaczyński W., Pejsak Z., 2006. Pierwszy przypadek poodsadzeniowego wielonarządowego zespołu wyniszczającego świń w Polsce, *Med. Wet.*, 62:3, 297–301.



## SZCZEPIONKI MARKEROWE W ZWALCZANIU CHORÓB ZAKAŻNYCH TRZODY CHLEWNEJ

### MARKER VACCINES IN ERADICATION OF INFECTIOUS DISEASES IN PIGS

Wojciech Szweda

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: szweda@uwm.edu.pl*

Choroby zakaźne są ciągle ważną przyczyną strat ekonomicznych w hodowli zwierząt w skali świata, stanowiąc jednocześnie zagrożenie dla zdrowia publicznego. Jedną z metod przeciwdziałania im jest stosowanie szczepionek, dawniej konwencjonalnych, a ostatnio coraz częściej nowoczesnych w profilaktyce, kontroli i zwalczaniu chorób zakaźnych.

W programach zwalczania (eradykacji) chorób zakaźnych ważną rolę odgrywają szczepionki markerowe, które umożliwiają różnicowanie zwierząt zakażonych od szczepionych (strategia DIVA) w programie szczepienie-eliminacja.

Pierwsze szczepionki markerowe zostały opracowane w latach 80. ubiegłego wieku do zwalczania choroby Aujeszky'ego (chA) u świń [4, 6]. Konstrukcja tych szczepionek była oparta na tzw. mutantach delecyjnych, tj. zjadliwych szczepach wirusa chA, z genomu których usunięto (delecja) metodami inżynierii genetycznej określone geny kodujące glikoproteiny otoczkowe (najczęściej gE), zwykle determinujące zjadliwość, przy zachowaniu właściwości immunogennych (marker serologiczny). Z tego powodu szczepionki te określa się jako delecyjne. W celu ujednoczenia programów zwalczania chA stosuje się wyłącznie szczepionki gE-ujemne, które muszą spełniać standardy nieszkodliwości i skuteczności. Glikoproteina wybrana jako marker serologiczny nie może znacząco obniżać immunogenności mutantu delecyjnego, musi występować we wszystkich szczepach terenowych i być wysoce immunogenna. W programie szczepienie-eliminacja, oprócz szczepionki markerowej, istotną rolę odgrywa test serologiczny (gE-ELISA), maksymalnie czuły i swoisty, spełniający także określone standardy.

Strategia DIVA została również zaadaptowana i może być stosowana w zwalczaniu innych chorób zakaźnych trzody chlewnej – pomoru klasycznego świń, pryszczycy, parwowirusowego zakażenia świń i zespołu rozrodzo-oddechowego świń. Do szczepień świń w programie szczepienie-eliminacja nie muszą być stosowane wyłącznie szczepionki delecyjne, ale również szczepionki podjednostkowe, DNA, wektorowe, a nawet konwencjonalne inaktywowane, które mogą być również traktowane jako szczepionki markerowe, ponieważ umożliwiają serologiczne zróżnicowanie świń szczepionych i zakażonych. To zróżnicowanie jest aktualnie możliwe nie tylko metodami pośrednimi poprzez wykrywanie przeciwciał, ale także metodami bezpośrednimi poprzez wykrywanie zarazka, a w zasadzie jego materiału genetycznego metodami molekularnymi (genetyczna strategia DIVA).

#### Piśmiennictwo:

- [1] Aleksiewicz M.B., Stadejek T., Maćkiewicz Z., Porowski M., Pejsak Z., 2005. Discriminating between serological responses to European-genotype live vaccine and European-genotype field strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) by peptide ELISA. *J. Virol. Methods*, 129, 134–144.
- [2] Beer M., Reimann I., Hoffmann B., Depner K., 2007. Novel marker vaccines against classical swine fever. *Vaccine*, 25, 5665–5670.
- [3] Niedbalski W., Kęsy A., 2006. Serologiczne różnicowanie zwierząt szczepionych od zakażonych wirusem pryszczycy. *Med. Wet.*, 62, 20–23.
- [4] Quint W.G.V., Gielkens A.L.J., Berns A.J.M., van Oirschot J.T., Cuypers H.T., 1987. Construction and characterization of deletion mutants of pseudorabies virus: a new generation of “live” vaccines. *J. Gen. Virol.*, 68, 523–534.
- [5] Van Oirschot J.T., Gielkens A.L.J., Moormann R.J.M., Berns A.J.M., 1990. Marker vaccines, virus protein-specific assays and the control of Aujeszky's disease. *Vet. Microbiol.* 123, 85–101



## DIAGNOSTYKA SEROLOGICZNA BRUCELOZY ŚWIŃ – KONSEKWENCJE PRAKTYCZNE W OBROTCIE MIĘDZYNARODOWYM

### SEROLOGICAL DIAGNOSTICS OF SWINE BRUCELLOSIS – THE PRACTICAL IMPLICATIONS FOR INTERNATIONAL TRADE

Kazimierz Tarasiuk

PIC Polska, ul. Wazów 8A, 01-986 Warszawa, e-mail: [kazimierz.tarasiuk@genusplc.com](mailto:kazimierz.tarasiuk@genusplc.com)

Brucelozę świń po raz pierwszy rozpoznano w 1914 r. Początkowo sądzono, że czynnikiem etiologicznym jest *Brucella abortus*. Dopiero Huddleston w 1929 r. wykazał, że patogen ten należy do oddzielnego gatunku – *Brucella suis*, który jest głównym czynnikiem przyczynowym brucelozy świń. Gatunek *B. suis* obejmuje 5 biotypów, z których znaczenie patogenne u świń mają biotypy 1, 2 i 3. W Europie najbardziej rozpowszechniony jest biotyp 2. W Polsce głównym rezerwuarem zarazka są zające i dziki. W naszym kraju, z wyjątkiem niektórych firm genetycznych (PIC), nie prowadzi się regularnych badań monitoringowych w kierunku brucelozy świń. Obowiązek badań wymagany jest w odniesieniu do centrów pozyskiwania nasienia i punktów kopulacyjnych oraz w odniesieniu do knurów inseminacyjnych, będących przedmiotem obrotu zarówno krajowego, jak i międzynarodowego. Konieczność badań w kierunku brucelozy świń dotyczy też loszek hodowlanych eksportowanych z obszaru Unii Europejskiej do krajów trzecich, w tym do Rosji.

W badaniach w kierunku brucelozy świń znajduje zastosowanie cały szereg testów serologicznych, które w tym celu są wykorzystywane ze względu na łatwość wykonania, jak również niski koszt. Do najczęściej stosowanych metod w badaniu serologicznym zaliczyć należy OKAP, OWD, ELISA oraz OA. Trzeba jednak podkreślić, że żaden z tych testów nie jest przeznaczony do badania pojedynczych świń z uwagi na częste występowanie reakcji krzyżowych najczęściej na tle *Yersinia enterocolitica* O:9, określanych jako fałszywie dodatnie reakcje serologiczne dla *Brucella suis*. Sytuacja taka miała miejsce w badaniu kontrolnym świń zaimportowanych z dwóch krajów Unii Europejskiej do Rosji. Przed wysyłką, na kwarantannie, 2300 świń przebadano w kierunku brucelozy, z wynikiem ujemnym, przy użyciu OKAP oraz OWD. Po dostarczeniu świń przeprowadzono badanie kontrolne w kierunku brucelozy przy użyciu testu OWD w laboratorium kraju importera. W surowicy 245 zwierząt stwierdzono dodatnie reakcje serologiczne w odczynie OWD dla *Brucella suis*. Natychmiast wstrzymano import świń hodowlanych, a zwierzęta przebywające na kwarantannie poddano dalszym badaniom diagnostycznym. Kolejne badanie serologiczne krwi pobranej od tych samych zwierząt w odstępie 3 tygodni wykonano w PIWet-PIB w Puławach. Wykazało ono dodatnie reakcje serologiczne w OWD na bardzo niskim poziomie (1:5) jedynie u 7 loszek. Dodatkowo wykonano badania serologiczne tych samych surowic przy użyciu innych testów, w tym (OKAP – jeden wynik dodatni; ELISA – 37 wyników dodatnich; OA – 17 wyników pozytywnych). Szczegółowa analiza uzyskanych wyników badań serologicznych (szybki spadek liczby świń dodatnich, niski poziom p/ciał) pozwoliła na wykluczenie podejrzenia zakażenia *Brucella suis* u zaimportowanych loszek hodowlanych. W tym przypadku stwierdzono występowanie fałszywie dodatnich reakcji serologicznych najprawdopodobniej na tle *Yersinia enterocolitica*. Wymaga to jednak każdorazowo dodatkowych badań potwierdzających, przeprowadzonych w odstępie 3-4 tygodni, przy użyciu kilku testów serologicznych jednocześnie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Szulowski K., Iwaniak W., Weiner W., Złotnicka J., Szymajda M. Zaręba, Czępińska H., 2011. Diagnostyka i sytuacja epidemiologiczna brucelozy świń w Polsce. *Życie Wet.*, 86:5, 368–370.
- [2] EFSA, 2009. Porcine brucellosis. 1144, 2–114.



## WPŁYW DIETY WZBOGAČONEJ W NOWE ODMIANY TRANSGENICZNE LNU NA WŁAŚCIWOŚCI NASIENIA KNURA

### EFFECT OF DIET ENRICHED WITH NEW VARIETIES OF TRANSGENIC FLAX ON THE PROPERTIES OF BOAR SEMEN

Wiesław Bielas<sup>1</sup>, Jan Szopa-Skórkowski<sup>2</sup>, Agnieszka Partyka<sup>1</sup>, Agnieszka Antończyk<sup>1</sup>,  
Wojciech Nizański<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich, pl. Grunwaldzki 49, 50-360 Wrocław, e-mail: wieslawbielas@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Wrocławski, Wydział Biotechnologii, Zakład Biochemii Genetycznej, e-mail: szopa@ibmb.uni.wroc.pl

Warunkiem zdrowej diety świń jest tłuszcz o wysokiej zawartości oraz odpowiednim stosunku niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych n-3 i n-6. Kwasy n-3 (linolenowy, eikozapentaenowy, dokozaheksaenowy) wchodzące w skład niektórych tłuszczów oraz olejów, pozytywnie wpływają na płodność knurów. Tradycyjna dieta oparta na kukurydzy, soi oraz innych zbożach faworyzuje syntezę kwasów n-6 niż n-3, co ujemnie wpływa na jakość nasienia samca. Ziarna lnu są głównym źródłem kwasu linolenowego, prekursora kwasów omega 3. Okazało się, że świny posiadają zdolność syntezy kwasów n-3 z kwasu linolenowego. Nasiona nowych odmian lnu mają zwiększoną zdolność ochrony zawartego w nich kwasu linolenowego dzięki zawartości naturalnych antyoksydantów.

**Cel badań:** Określenie wpływu dodatku do paszy knurów reproduktorów mączki z nasion transgenicznej odmiany lnu W92 na jakość plemników świeżych oraz konserwowanych.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono wiosną na 4 knurach reproduktorach linii Neckar firmy Pen Ar Lan na fermie koło Opola. Nasienie samców doświadczalnych od kilku miesięcy cechowało się obniżoną jakością. W czasie badań przez 12 tygodni knury żywiono paszą standardową z 10% dodatkiem mączki z siemienia lnianego. Właściwości biologiczne ejakulatów przed rozpoczęciem żywienia knurów paszą z dodatkiem siemienia stanowiły wartości kontrolne w stosunku do wartości ejakulatów uzyskanych po 12 tygodniach suplementacji. Nasienie z pobieranych ejakulatów poddawano ocenie makroskopowej, mikroskopowej, komputerowo wspomaganą analizę jakości nasienia – CASA, cytometrycznej (żywołność, integralność akrosomów, mitochondrialny potencjał błonowy) oraz chemicznej (ocena peroksydacji lipidów błonowych).

**Wyniki i omówienie:** 12-tygodniowa suplementacja mączki z lnu do paszy knurów reproduktorów spowodowała poprawę wskaźników jakości nasienia świeżego i konserwowanego w stanie płynnym, takich jak: odsetek plemników o ruchu prawidłowym, VCL, Lin, ALH, odsetek plemników nieuszkodzonych, odsetek plemników bez zmian morfologicznych, koncentracji oraz zahamowała aglutynację. Nie stwierdzono wzrostu objętości ejakulatów. Wykazano obniżenie stopnia utleniania lipidów w plemnikach. Podobne wyniki uzyskał Mourvaki i wsp. [1] przez suplementację karmy królika ekstrudowanym nasieniem lnu odmian tradycyjnych. Z otrzymanych rezultatów niniejszych badań wynika, iż można spowodować poprawę obniżonej jakości nasienia knurów reproduktorów przez dodatek do paszy mączki z nasion lnu. Prezentowane wyniki wymagają jednak potwierdzenia na większej liczbie zwierząt, przez cały rok przy zastosowaniu w paszy dodatków siemienia odmian tradycyjnych (wysoka zawartość kwasu linolenowego) oraz o obniżonej zawartości kwasu linolenowego (odmiany Linola), aby zweryfikować uzyskany w wyniku analiz pogląd, że poprawa jakości nasienia knurów mogła być spowodowana obniżeniem zawartości kwasu linolenowego i wzrostem stężenia antyoksydantów w nasionach lnu odmian modyfikowanych genetycznie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Mourvaki E., Cardinali R., Dal Bosco A., Corazzi L., Castellini C., 2010. Effects of flaxseed dietary supplementation on sperm quality and on lipid composition of sperm subfractions and prostatic granules in rabbit. *Theriogenology*, 73, 629–637.
- [2] Prescha A., Biernat J., Lorenc-Kukuła K., Grajeta H., Szopa J., 2005. Skład kwasów tłuszczowych oraz podatność na utlenianie tłuszczu z nasion lnu modyfikowanego genetycznie o zwiększonej zawartości związków fenolowych. *Nowiny Lekarskie*, 74, 462–466.





## ZMIANY W BUDOWIE MORFOLOGICZNEJ PLEMNIKÓW W NASIENIU KNURÓW W ZALEŻNOŚCI OD PORY ROKU

### CHANGES IN THE CONSTRUCTION OF A MORPHOLOGICAL SPERM IN THE SEMEN OF BOARS, DEPENDING ON THE SEASON

Piotr Brodzki, Zygmunt Wrona, Adam Brodzki, Tomasz Piech

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail wetdoc@interia.pl

Okresowe zmiany ilościowe i jakościowe nasienia obserwowane są u samców większości gatunków zwierząt domowych. Czasowe pogorszenie jakości nasienia występuje głównie u samców tych gatunków zwierząt, których aktywność rozrodcza występuje raz lub dwa razy w roku w tzw. sezonach rozrodczych. Knury są samcami wykazującymi aktywność rozrodczą na podobnym poziomie przez cały rok. Istnieją jednak liczne doniesienia o okresowym pogorszeniu parametrów jakości nasienia knurów, uzależnione od różnych czynników na jakie narażone są samce. Negatywne oddziaływanie mogą tutaj mieć stres, nieodpowiednie żywienie, stosowane leki, a nawet niekorzystne warunki środowiskowe związane ze zmianami pór roku (temperatura, wilgotność, nasłonecznienie itd.).

**Cel badań:** Określenie wpływu pory roku i zmian czynników środowiskowych w nich zachodzących na ilość i rodzaj wad w budowie morfologicznej plemników w nasieniu knurów.

**Materiał i metody:** Badania wykonane zostały na 240 ejakulatach pozyskanych metodą manualną, od 20 wyselekcjonowanych knurów rasy pbz, wykorzystywanych jako rozplodniki w stacji unasienniania zwierząt. Nasienie pobierane było 12 razy, jeden raz w miesiącu w regularnych odstępach czasu. Po pozyskaniu ejakulaty poddane zostały rutynowej ocenie ilościowej i jakościowej ze szczególnym zwróceniem uwagi na ocenę budowy morfologicznej plemników. Plemniki oceniano w mikroskopie świetlnym, w powiększeniu 1000-krotnym, z zastosowaniem kamery przekazującej obraz z mikroskopu na monitor komputera, co w znaczny sposób ułatwiło pracę oraz poprawiło dokładność badania. W wykonanych rozmazach nasienia, zabarwionych metodą diffqic oceniano po 500 plemników w różnych polach widzenia. Ocena opierała się na wyliczeniu % plemników z wadami głównymi, podrzędnymi oraz plemników o prawidłowej budowie morfologicznej, opierając się na klasyfikacji podanej przez Blöma. W wadach głównych i podrzędnych określono również rodzaj i powtarzalność poszczególnych typów nieprawidłowości.

**Wyniki i omówienie:** Z przeprowadzonych badań wynika, że jakość nasienia knurów zmienia się w zależności od pory roku. Statystycznie istotne pogorszenie jakości ejakulatów obserwowano już od wiosny aż do jesieni, ze szczytem w miesiącach letnich czerwiec, lipiec i sierpień. W całym wymienionym okresie wzrastała ilość zarówno wad głównych, jak i podrzędnych, spadał % plemników o prawidłowej morfologii. Wadami dominującymi wśród plemników z wadami głównymi były kropla proksymalna, defekt Daga, główka zwężona u podstawy oraz główka gruszkowata. W wadach podrzędnych dominowały kropla distalna, pojedyncza pętla witki oraz plemniki z uszkodzonym akrosomem. Wyniki badań własnych potwierdzają badania wielu autorów, którzy pogorszenie jakości nasienia wiążą ze zmianą warunków środowiskowych, głównie ze wzrostem temperatury w miesiącach letnich. Inni autorzy znaczny procentowy wzrost wad plemników w nasieniu knurów w wymienionym okresie, upatrują jako pozostałości po dzikich przodkach – dzikach.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Banaszewska D., Kondracki S., Wysokińska A., 2007. Wpływ sezonu na zmiany w budowie morfologicznej plemników wybranych ras knurów inseminacyjnych. *Acta Sci. Pol., Zootechnica* 6:2, 3–14.
- [2] Kozdrowski R., Dubiel A., 2004. The effect of season on the properties of wild boar. *Anim. Reprod. Sci.*, 80, 281–289.





## NEURONOWA OCENA JAKOŚCI OOCYTÓW ŚWIŃ

### NEURAL EVALUATION OF PIG OOCYTES QUALITY

Tatiana Dejewski<sup>1</sup>, Piotr Boniecki<sup>1</sup>, Marta Jackowska<sup>2</sup>, Magdalena Woźna<sup>2</sup>,  
Jędrzej Maria Jaśkowski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Instytut Inżynierii Rolniczej, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii,  
e-mail: tatdeje@up.poznan.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Weterynarii, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt,  
ul. Wojska Polskiego 52, 60-625 Poznań

**Wstęp:** Ocena kwalitatywna oocytów jest istotnym etapem w tematyce związanej z rozrodem zwierząt. Stanowi ona przedmiot badań oraz analiz w hodowli *in vitro*. Poszczególne metody klasyfikacji jakościowej ze względu na swoją specyfikę odróżniają się m.in.: poziomem skuteczności oceny, wykorzystywaną aparaturą, stopniem inwazyjności, czasochłonnością, kosztem badania.

**Materiał i metody:** Metoda neuronowej analizy obrazu polega na przeprowadzeniu komputerowej analizy obrazu zdjęć mikrofotograficznych oocytów świni, przez co uzyskuje się charakterystykę morfologiczną badanego materiału. Technika ta nie wymaga naruszania homeostazy oocytu, tak więc jej zaletą jest nieinwazyjność. Informacje statystyczne wyekstrahowane z obrazów są podstawą do budowy zbioru uczącego, niezbędnego w procesie uczenia sztucznych sieci neuronowych. Zgromadzone przypadki uczące (zdjęcia oocytów) stanowią źródło wiedzy dla sztucznej sieci neuronowej, która „uczy” się dostępnych wzorców, nabывая przy tym umiejętności uogólniania wiedzy. Charakterystycznymi cechami budowy morfologicznej oocytów świni są m.in.: wielkość oocytu, jego kształt, ilość komórek ziarnistych, ciągłość „pierścieni” warstw tych komórek. Celem komputerowej analizy obrazu jest wydobycie informacji opisujących powyższe cechy charakterystyczne i przedstawienie ich w sposób liczbowy. Wykorzystuje się do tego celu np. przekształcenia obrazów, filtry, ekstrakcje barw itd.

**Wyniki i omówienie:** W niniejszej pracy przedstawiono ogólną ocenę możliwości dokonania oceny jakościowej oocytów opierając się na o technologii wykorzystującej komputerową analizę obrazu oraz sztuczne sieci neuronowe. Wstępne wyniki zaprezentowano dla 256 przypadków uczących i siedmiu zmiennych wejściowych. Zwrócono uwagę na przydatność zmiennych wejściowych na podstawie analizy wrażliwości, a więc stopnia w jaki wpłynęły one na efekt łączny.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dejewski T., Boniecki P., Jaśkowski J.M., Kicuła M., Racewicz P., 2010. Identyfikacja cech biometrycznych zwierząt z wykorzystaniem neuronowej analizy obrazu. *Med. Wet.*, 69:9, 609–613.
- [2] Dejewski T., Boniecki P., Jaśkowski J.M., Jakubek A., 2011. Binarizacja obrazów mikrofotograficznych oocytów świni domowej w procesie neuronowej analizy obrazu *J. Res. Appl. Agricul. Eng.*, 56:2, 156–161.



## ANALIZA EKSPRESJI GENÓW KODUJĄCYCH RODZINĘ TRANSFORMUJĄCYCH CZYNNIKÓW WZROSTU (TGFB) U ŚWIŃ W ŚCIANIE PĘCHERZYKÓW JAJNIKOWYCH PRAWIDŁOWYCH I WYKAZUJĄCYCH ZMIANY PATOLOGICZNE

### TRANSFORMING GROWTH FACTORS BETA (TGFB) SUPERFAMILY GENES EXPRESSION ANALYSIS IN PORCINE PATHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL OVARIAN FOLLICLES

Marta Jackowska<sup>1</sup>, Magdalena Woźna<sup>1</sup>, Bartosz Kempisty<sup>2</sup>, Maria Kosmalska<sup>3</sup>, Aleksandra Żuraw<sup>1</sup>, Paweł Antosik<sup>1</sup>, Jędrzej Maria Jaśkowski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Weterynarii Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt, ul. Wojska Polskiego 52, 60-625 Poznań, e-mail: jackowska.m@interia.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego, Wydział Lekarski II, Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, ul. Święcickiego 6, 60-781 Poznań

<sup>3</sup>Polska Akademia Nauk, Instytut Genetyki Człowieka, Zakład Genetyki Molekularnej i Klinicznej, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

**Wstęp:** Jedną z przyczyn niepłodności u świń są torbiele jajnikowe, które mogą prowadzić do przedwczesnego brakowania loch z hodowli. Struktury takie powstają z nieowulujących pęcherzyków lub w miejscu ciała żółtego. Obecnie nawet do 40% wszystkich przyczyn zaburzeń rozrodu trzody chlewnej stanowią tego typu patologie jajników. Lochy z wieloma cystami na jajnikach pozostają zazwyczaj jałowe lub niepłodne, występują u nich ruje w nieregularnych odstępach czasu. O ile diagnozowanie torbieli jajnikowych jest stosunkowo łatwe poprzez badanie ultrasonograficzne, o tyle ich przyczyny, zwłaszcza w odniesieniu do potencjalnych zaburzeń na poziomie komórkowym czy molekularnym, pozostają nieznanymi. Zastosowanie metod genetyki molekularnej może w znaczący sposób wpłynąć na rozwój technik wspomaganego rozrodu oraz prowadzić do opracowania bardziej subtelnych metod terapii cyst jajnikowych.

**Cel projektu:** Określenie zmian zachodzących w ekspresji genów należących do rodziny transformujących czynników wzrostu beta (TGF- $\beta$ ) odpowiedzialnych za folikulogenezę w prawidłowo rozwijających się pęcherzykach w odniesieniu do patologicznych struktur jajnikowych jakimi są cysty.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły jajniki dojrzałych płciowo loszek i loch, pozyskiwanych z jednej z wielkopolskich ubojni. Świnie należały do mieszańców rasy Wielkiej Białej Polskiej oraz Polskiej Białej Zwisłouchej. Do analiz wykorzystane zostały fragmenty pochodzące ze ścian pęcherzyków fizjologicznych, o średnicy przekraczającej 5 mm (30 prób) oraz ze ścian cyst jajnikowych (30 prób), o masie wynoszącej 100 mg każdy. Uzyskane wyniki otrzymano, stosując metodę RQ-PCR określającą poziom ekspresji mRNA TGFB1,2, GDF9, INHa i INHb.

**Wyniki i omówienie:** Analizę statystyczną wyników przeprowadzono w pakiecie R (R Development Core Team 2011). Prezentowane wyniki doświadczeń stanowią średnią ( $\pm$ SEM) pomiarów uzyskanych z trzech oddzielnych powtórzeń każdego eksperymentu. Wyniki normalizowano względem genów referencyjnych ACTGB i GAPDH. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w poziomie transkryptów TGFB2, GDF9, Inhibiny A i Inhibiny B pomiędzy grupą kontrolną a patologiczną. Natomiast ilość transkryptów TGFB1 była wyższa w pęcherzykach fizjologicznych w porównaniu ze ścianą torbieli jajnikowych ( $P < 0,05$ ). Poziom transkryptu TGFB1 może stać się efektywnym markerem molekularnym występowania torbieli jajnikowych u trzody chlewnej.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Knight P.G., Glister C., 2003. Local roles of TGF- $\beta$  superfamily members in the control of ovarian follicle development Anim. Reprod. Scien., 78,165–183.
- [2] Castagnaa C.B., Peixotoa C.H., Bortolozzoa F.P., Wentza I., Netob G.B., Ruschel F., 2004. Ovarian cysts and their consequences on the reproductive performance of swine herds. Anim Reprod. Scien., 81, 115–123.



## CZYNNOŚĆ ZASTAWKI MITRALNEJ ŚWINI W ULTRASONOGRAFII JEDNOWYMIAROWEJ

### NORMAL M-MODE ECHOCARDIOGRAPHY OF MITRAL VALVE IN ADULT DOMESTIC SWINE

Adrian Janiszewski<sup>1</sup>, Józef Nicpoń<sup>2</sup>, Wojciech Witkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu Ośrodek Badawczo-Rozwojowy, ul. H. Kamińskiego 73a, 51-124 Wrocław, e-mail: ajanisz@gmail.com

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław

Duży model zwierzęcy, a przede wszystkim świnie odgrywają kluczową rolę w badaniach nad biologicznymi mechanizmami biorącymi udział w ewolucji zmian patologicznych zastawki dwudzielnej i badaniami nad nowymi strategiami jej leczenia u ludzi.

**Cel badań:** Uzupelnienie wiedzy na temat fizjologicznych wartości ultrasonograficznych zastawki mitralnej u świnie domowej.

**Materiał i metody:** Badanie wykonano u 80 zdrowych świń o masie ciała od 50 do 150 kg. U niektórych zwierząt badania wykonano kilkakrotnie – przez co uzyskano 163 obserwacje. Świnie podzielono na grupy różniące się masą ciała o 10 kg. Pomiarów echokardiograficznych wykonano przy użyciu aparatu Aloka 4000+ z sondą 3,5 MHz zgodnie ze standardami Amerykańskiego Towarzystwa Echokardiograficznego

**Wyniki i omówienie:** Pomiarów echokardiograficznych u świń o masie ciała 50–150 kg. Ruch płatków przedniego zastawki mitralnej rejestrowany M-mode projekcją przymostkowa prawa (C-E, E-F, C-A, E/A, EPSS)

Masa ciała	50–59 kg	60–69 kg	70–79 kg	80–89 kg	90–99 kg	100–109 kg	110–119 kg	120–129 kg	130–139 kg	140–150 kg	Dorosły człowiek
Liczba zwierząt (n)	n=8	n=8	n=9	n=12	n=10	kg n=11	kg n=16	kg n=9	n=21	kg n=6	
C-E ampl. (cm)	1,47±0,37	1,77±0,4	1,9±0,33	1,96±0,49	2,23±0,45	2,38±0,38	2,47±0,44	2,57±0,27	2,36±0,32	2,55±0,4	1,7–3,0
E-F sloop (cm/s)	11,5±2,1	12,1±3,9	10,8±2,5	11,2±3,2	11,9±3,1	13,2±4,1	12,3±3,9	11,9±4,6	13,0±3	14,6±3,3	7–15
C-A ampl. (cm)	0,78±0,27	1,28±0,36	1,32±0,32	1,31±0,33	1,61±0,51	1,72±0,28	1,71±0,28	1,89±0,27	1,79±0,29	1,76±0,35	>3
E/A	2,01	1,44	1,48	1,53	1,56	1,4	1,5	1,42	1,36	1,47	>1
EPSS (cm)	0,43±0,11	0,54±0,12	0,56±0,27	0,65±0,1	0,78±0,15	0,89±0,34	0,8±0,33	0,72±0,37	1,12±0,26	0,98±0,37	0,4–0,8

W niniejszej pracy wykazano, iż wyniki badania ultrasonograficznego zastawki dwudzielnej u świń wykazują dużą zgodność z wartościami normalnymi dla człowieka.

Praca finansowana ze środków WroVasc – Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo-Naczyniowej



## WPŁYW ENDEMICZNEGO WYSTĘPOWANIA ZAKAŻEŃ *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* ORAZ STOSOWANIA AUTOSZCZEPIONKI NA WSKAŹNIKI REPRODUKCYJNE U MACIOR

### INFLUENCE OF ENDEMIC *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* INFECTION AND AUTOVACCINATION ON THE REPRODUCTIVE RATES IN SOWS

Łukasz Jarosz, Zbigniew Grądzki, Marcin Kalinowski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: lukasz.jarosz@up.lublin.pl

Świnie są gatunkiem zwierząt gospodarskich o dużych możliwościach reprodukcyjnych. Rozwój gospodarki rynkowej i handlu wymuszają podejmowanie na fermach trzody chlewnej działań stymulujących konkurencyjną produkcję żywca. Efektywność tych działań obniżają różnorodne problemy zdrowotne, najczęściej pojawiające się w sektorze rozrodu, związane z udziałem czynników zakaźnych i niezakaźnych. W grupie drobnoustrojów chorobotwórczych duże znaczenie, w aspekcie wywoływania strat ekonomicznych, przypisywane jest *A. pyogenes*. Klinikzną konsekwencją zakażeń tym drobnoustrojem u świń może być zapalenie błony śluzowej układu rozrodczego, zatrzymanie błon płodowych, ronienie, rodzenie martwych płodów, słabych prosiąt lub występowanie zespołu MMA. U macior stada podstawowego zarazek często wywołuje ropnie w różnych okolicach ciała, chorobę zwyrodnieniową stawów oraz zapalenie wielostawowe. Stosowanie antybiotyków nie jest skuteczne w zwalczaniu zakażeń *A. pyogenes*. Korzystne efekty, z punktu widzenia zdrowotności stada podstawowego, uzyskuje się, stosując profilaktykę swoistą. W warunkach krajowych nie podejmowano dotychczas badań oceniających wpływ zakażenia *A. pyogenes* oraz szczepień na wskaźniki reprodukcyjne u macior.

**Cel badań:** Ocena wskaźników reprodukcyjnych u macior stada podstawowego, pochodzących z ferm zapowietrzonych *A. pyogenes*, u których zastosowano autoszczepionkę w celu ograniczenia strat związanych z zaburzeniami w rozrodzie.

**Materiał i metody:** Badania wykonano w 10 fermach trzody chlewnej o obsadzie od 50–100 macior stada podstawowego, zlokalizowanych na terenie województwa lubelskiego i podkarpackiego, w których potwierdzono endemiczne występowanie zakażeń *A. pyogenes*. Obserwacje kliniczne oraz monitorowanie badanych parametrów prowadzono przez 12 miesięcy. Zwierzęta stada podstawowego podzielono na dwie grupy. Grupę doświadczalną stanowiły maciory, którym podawano autoszczepionkę przeciwko *A. pyogenes*. Maciory nie szczepione stanowiły kontrolę. Prowadzone obserwacje dotyczyły powtarzania rui, występowania zespołu MMA, zakażeń dróg rodnych, w tym zapalenia macicy, pochwy, zatrzymania łożyska, poronień, liczebności miotów oraz liczby prosiąt odsadzonych. Istotność różnic dla danych uzyskanych w obu grupach analizowano statystycznie jednoczynnikową analizą wariancji ANOVA oraz testem Duncana przy poziomie istotności  $p < 0,005$ .

**Wyniki i omówienie:** W stadach podstawowych, w których stosowano autoszczepionkę stwierdzono statystycznie istotnie niższy, w porównaniu z grupą kontrolną współczynnik poronień, odsetek macior powtarzających ruję, wykazujących objawy zespołu MMA i zakażeń dróg rodnych. Statystycznie istotne różnice odnotowano także w odniesieniu do liczby prosiąt urodzonych i liczby prosiąt odsadzonych. Efektem szczepień była również widoczna poprawa w innych sektorach produkcji, w porównaniu ze stadami, w których nie przeprowadzano immunizacji loch. Uzyskane wyniki wskazują, że endemiczne występowanie zakażeń *A. pyogenes* wpływa istotnie na obniżenie wskaźników reprodukcyjnych u macior, prowadząc do zmniejszenia rentowności ferm trzody chlewnej.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Pejsak Z., Markowska-Daniel I., Kowalczyk A., Jabłoński A., Kozaczyński W., Loda M., 2005. Zaburzenia w rozrodzie związane z wybuchem grypy świń w fermie wielkotowarowej. *Med. Wet.*, 61, 1154–1159.
- [2] Karbowski P., 2009. Wpływ szczepień w stadzie świń z ostrą postacią PMWS na ograniczenie strat produkcyjnych. *Mag. Wet.*, Choroby świń – Monografia, 596–600.



## WPŁYW SZCZEPIENIA CIĘŻARNYCH MACIOR PRZECIWKO *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* NA KSZTAŁTOWANIE SIĘ SUBPOPULACJI LIMFOCYTÓW, PROFILU CYTOKIN I BIAŁEK OSTREJ FAZY W SIARZE I MLEKU

## INFLUENCE OF PREGNANT SOWS VACCINATION AGAINST *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* ON THE SELECTED LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS, CYTOKINE PROFILE AND ACUTE PHASE PROTEINS IN COLOSTRUM AND MILK

Łukasz Jarosz, Zbigniew Grądzki, Marcin Kalinowski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: lukasz.jarosz@up.lublin.pl

Dysfunkcja mechanizmów odporności odgrywa ważną rolę w rozwoju zakażeń, zwłaszcza wywołanych przez drobnoustroje oportunistyczne, np. *A. pyogenes*. Antybiotykoterapia, stosowana dotychczas w zwalczaniu tych zakażeń, nie zawsze jest skuteczna. Immunizacja macior ciężarnych wzmacnia przekazywanie odporności potomstwu za pośrednictwem siary i mleka. Stosowanie autoszczepionek u macior w fermach trzody chlewnej, w których stwierdza się endemiczne występowanie zakażeń *A. pyogenes*, pozwala ograniczyć ujemne skutki tych infekcji u potomstwa.

**Cel badań:** Ocena odpowiedzi immunologicznej u macior, po zastosowaniu autoszczepionki przeciwko zakażeniom *A. pyogenes*, poprzez ocenę kształtowania się subpopulacji limfocytów, profilu wybranych cytokin i białek ostrej fazy w siarze i mleku.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na fermie hodowlanej trzody chlewnej, w której potwierdzono endemiczne występowanie zakażeń *A. pyogenes*. Do badań wytypowano 12 macior, które podzielono na dwie grupy. Grupę doświadczalną stanowiło 6 macior, którym podano autoszczepionkę dwukrotnie w 6. i 3. tygodniu przed porodem. Maciory (n=6), które nie otrzymały autoszczepionki stanowiły kontrolę. Od macior z obu grup pobierano siarę i mleko w 1., 24., 48., 72., 96., 120., 144. i 168. godzinie po porodzie. Metodą cytometrii przepływowej w badanym materiale określono ekspresję cząsteczek powierzchniowych na limfocytach T, CD4, CD8 i CD25 oraz na limfocytach B, B-cells i CD21. Profile wybranych cytokin, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  i Il-10 oraz białek ostrej fazy, haptoglobiny (Hp) i surowiczego składnika amyloidu A (SAA) oznaczono przy użyciu komercyjnych testów ELISA. Wyniki analizowano statystycznie przy użyciu programu SAS.

**Wyniki i omówienie:** Odsetek limfocytów T CD4+ i CD8+ był, w większości terminów oznaczeń, istotnie wyższy w grupie doświadczalnej w porównaniu z kontrolną. Taką samą zależność wykazano pomiędzy grupami w odniesieniu do ekspresji cząsteczki CD25+. Odsetek subpopulacji limfocytów B CD21+ w grupie doświadczalnej był, we wszystkich terminach oznaczeń, wyższy w porównaniu z kontrolą. Analiza odsetka subpopulacji limfocytów B z ekspresją B-cells w grupie doświadczalnej wykazała stopniowe zmniejszanie się wartości badanego parametru począwszy od 24 godz. po porodzie. W grupie kontrolnej podobną dynamikę stwierdzono począwszy od 48 godz. po porodzie, przy czym odsetek tych komórek był istotnie wyższy w grupie doświadczalnej w porównaniu z kontrolą z wyjątkiem 48. i 72. godz. po porodzie. Stężenie Hp we wszystkich terminach oznaczeń było wyższe w grupie doświadczalnej w porównaniu z kontrolą. Odwrotną zależność wykazano w ocenie stężenia SAA. Podobną do Hp dynamikę odnotowano w odniesieniu do stężenia IFN- $\gamma$  i Il-10. Duże wahania i różnice pomiędzy grupami stwierdzono, analizując stężenie TNF- $\alpha$ . Wysoką koncentrację tej cytokiny zarejestrowano w grupie doświadczalnej do 48 godz. po porodzie, podczas gdy w grupie kontrolnej w tym okresie nie wykazano jej obecności. Wysoki poziom TNF- $\alpha$  w tej grupie stwierdzono dopiero między 72. i 96. godz. po porodzie, a w pozostałych terminach oznaczeń był on niższy niż w grupie doświadczalnej. Uzyskane wyniki wskazują na modulowanie funkcji układu immunologicznego poprzez stymulację komórek efektorowych przez antygen szczepionkowy.

### Piśmiennictwo:

- [1] Reber A.J., Donovan D.C., Gabbard J., Galland K., Aceves-Avila M., Holbert K.A., Marshall L., Hurley D.J., 2008. Transfer of maternal colostrum leukocytes promotes development of the neonatal immune system Part II. Effects on neonatal lymphocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 123, 305–313.





## OCENA NIESPECYFICZNEJ ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ TYPU KOMÓRKOWEGO U PROSIĄT POCHODZĄCYCH OD MACIOR SZCZEPIONYCH W OKRESIE OKOŁOPORODOWYM PRZECIWKO *ARCANOBACTERIUM PYOGENES*

### ASSESSMENT OF NON-SPECIFIC CELL-MEDIATED IMMUNITY IN PIGLETS COMING FROM SOWS VACCINATED IN PERINATAL PERIOD AGAINST *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* INFECTION

Łukasz Jarosz, Zbigniew Grądzki, Marcin Kalinowski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: lukasz.jarosz@up.lublin.pl

Fagocytoza, będąca podstawową funkcją neutrofilów, monocytów i makrofagów tkankowych, jest skuteczną metodą obrony przed organizmami chorobotwórczymi i stanowi ważny element odporności nieswoistej. W zakażeniach świń *A. pyogenes* efektywność fagocytozy często jest ograniczona. W patogenezie tej choroby dużą rolę odgrywa interakcja zarazka z fagocytami gospodarza, co może skutkować dysfunkcją komórek układu immunologicznego. *A. pyogenes* w procesie fagocytozy, odbywającej się bez udziału opsonin, przeżywa w makrofagach, unikając przy tym nadzoru ze strony komórek immunokompetentnych. Brak opracowanej swoistej profilaktyki zakażeń *A. pyogenes* jest wskazaniem do stosowania u macior stada podstawowego autoszczepionek, stymulujących niespecyficzną odpowiedź immunologiczną u prosiąt.

**Cel badań:** Ocena niespecyficznego odpowiadzi immunologicznej u prosiąt po podaniu autoszczepionki maciorom ciężarnym, dokonana na podstawie oceny *in vitro* fagocytozy neutrofilów i monocytów krwi obwodowej.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na fermie hodowlanej, w której potwierdzono endemiczne występowanie zakażeń *A. pyogenes*. Grupę doświadczalną stanowiło 8 prosiąt pochodzących od macior szczepionych autoszczepionką. Grupę kontrolną stanowiły prosięta (n=8) pochodzące od macior nie szczepionych. Od prosiąt obu grup pobierano krew w dniu 0, przed pobraniem siary oraz w 7., 14., 21. i 28. dniu życia. Do oceny fagocytozy w komórkach pełnej krwi wykorzystano zestaw PhagoTest® firmy Becton Dickinson (BD). Badane próbki analizowano w cytometrze przepływowym (Epics XL Beckman-Coulter). Zjawisko fagocytozy oceniano ilościowo, określając całkowity odsetek komórek fagocytujących, odsetek fagocytujących neutrofilów i monocytów oraz jakościowo, określając średnią intensywność fluorescencji, będącej wyznacznikiem intensywności fagocytozy, oddzielnie dla neutrofilów i monocytów. Jako kontrolę negatywną przyjmowano wynik analizy próbki inkubowanej w temp. 0°C, w której zablokowane są procesy fagocytozy *E. coli*.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach wykazano, że całkowity odsetek komórek fagocytujących w grupie doświadczalnej był we wszystkich terminach oznaczeń wyższy w porównaniu z grupą kontrolną. Różnice istotne statystycznie stwierdzono pomiędzy urodzeniem a 14. dniem życia prosiąt. Średni odsetek fagocytujących neutrofilów w grupie doświadczalnej był w dniu 0 niższy w porównaniu z grupą kontrolną, po czym stwierdzono stopniowy wzrost odsetka tych komórek, który począwszy od 7. dnia do końca doświadczenia utrzymywał się na wyższym poziomie w porównaniu z kontrolą. Podobną zależność wykazano w ocenie średniego odsetka fagocytujących monocytów. Średnia intensywność fluorescencji (MFI) we wszystkich terminach oznaczeń była wyższa w grupie doświadczalnej w porównaniu z grupą kontrolną. Niższa aktywność badanych parametrów u prosiąt z grupy kontrolnej może wskazywać na ukierunkowaną wędrówkę fagocytów do rozwijającego się ogniska zapalenia oraz świadczy o zmniejszonej zdolności pochłaniania i zabijania drobnoustrojów. Wyższy odsetek komórek fagocytujących u prosiąt z grupy doświadczalnej jest dowodem uaktywnienia procesów zwalczania drobnoustrojów.

#### Piśmiennictwo:

[1] May R.C., Machesky L.M., 2001. Phagocytosis and the actin cytoskeleton. *J. Cell Sci.*, 114, 1061–1077.



## WPŁYW SZCZEPIENIA CIĘŻARNYCH MACIOR PRZECIWKO ZAKAŻENIOM *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* NA KSZTAŁTOWANIE SIĘ PROFILU CYTOKIN I BIAŁEK OSTREJ FAZY U PROSIĄT SSĄCYCH

### INFLUENCE OF PREGNANT SOWS VACCINATION AGAINST *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* ON THE CYTOKINE PROFILE AND ACUTE PHASE PROTEINS IN SUCKLING PIGLETS

Łukasz Jarosz, Zbigniew Grądzki, Marcin Kalinowski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: lukasz.jarosz@up.lublin.pl

*Arcanobacterium pyogenes* jest komensalem skóry i błony śluzowej układu oddechowego, moczowo-płciowego i przewodu pokarmowego różnych gatunków zwierząt, u których przy współudziale czynników ryzyka wywołuje zmiany ropne. Głównym objawem klinicznym zakażenia u prosiąt i starszych świń jest tworzenie się różnej wielkości ropni w obrębie stawów kończyn z towarzyszącym obrzękiem, kulawizną i ropnym zapaleniem stawów. Konsekwencją tych zmian są padnięcia prosiąt spowodowane zakażeniami wtórnymi, niedożywieniem lub urazami mechanicznymi. Swoista profilaktyka zakażeń *A. pyogenes* nie została dotychczas opracowana. Jedną z metod skutecznego zapobiegania zakażeniom bakteryjnym jest stosowanie autoszczepionek.

**Cel badań:** Ocena odpowiedzi immunologicznej prosiąt po podaniu autoszczepionki ciężarnym maciorom, poprzez określenie profilu cytokin i białek ostrej fazy.

**Materiał i metody:** Badania wykonano na fermie trzody chlewnej o zamkniętym cyklu produkcyjnym, w której stwierdzono endemiczne występowanie zakażeń *A. pyogenes*. Zwierzęta doświadczalne podzielono na dwie grupy. Grupę eksperymentalną stanowiło 8 prosiąt pochodzących od macior, którym w trakcie ciąży podawano autoszczepionkę. Prosięta (n=8) pochodzące od macior nie szczepionych stanowiły kontrolę. Krew od prosiąt z obu grup pobierano w dniu 0 przed pobraniem siary oraz w 7., 14., 21. i 28. dniu życia. Wybrane cytokiny oraz białka ostrej fazy oznaczano przy użyciu komercyjnych testów ELISA. W badaniach oznaczono stężenie surowiczego amyloidu A (SAA), haptoglobiny (Hp), interferonu gamma (INF- $\gamma$ ), interleukiny 10 (Il-10) oraz czynnika martwicy nowotworu (TNF $\alpha$ ).

**Wyniki i omówienie:** Oznaczanie stężenia białek ostrej fazy, SAA i Hp wykazało, w większości terminów wykonywania oznaczeń, niższą koncentrację tych białek w grupie doświadczalnej w porównaniu z grupą kontrolną. Dane te wskazują na ochronne działanie autoszczepionki, która poprzez stymulację układu immunologicznego ciężarnych macior zapobiega zakażeniom u prosiąt. Stężenie Il-10 w surowicy prosiąt we wszystkich terminach wykonywania oznaczeń nie różniło się pomiędzy badanymi grupami. Obecność TNF- $\alpha$  we krwi wykazano u prosiąt z grupy doświadczalnej już w dniu 0, t.j. bezpośrednio po urodzeniu. Stężenie tej cytokiny osiągało wartości najwyższe między 14. i 28. dniem życia. W grupie kontrolnej TNF- $\alpha$  wykrywano dopiero od 7. dnia życia, a jego stężenie utrzymywało się na wyrównanym poziomie we wszystkich terminach oznaczeń. Wysokie wartości stężenia TNF- $\alpha$  będącego cytokiną prozapalną i cytotoksyczną przy jednoczesnym niskim poziomie Il-10 wskazują na reakcję układu immunologicznego na antygen lub na zapalenie nieswoiste. Parametry te mogą świadczyć także o zachodzących procesach apoptozy, proliferacji komórek lub aktywacji limfocytów B. Analiza stężenia INF- $\gamma$  w obydwu grupach w przebiegu doświadczenia wykazała, we wszystkich terminach oznaczeń, niższe wartości badanego parametru w grupie doświadczalnej w porównaniu z grupą kontrolną. Niski, w grupie doświadczalnej, poziom INF- $\gamma$  może świadczyć, że wykazany w badaniach wzrost stężenia cytokin prozapalnych uwarunkowany jest reakcją organizmu na antygeny szczepionkowe.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Darwich L., Balasch M., Plana-Duran J., Segales J., Domingo M., Mateu E., 2003. Cytokine profiles of peripheral blood mononuclear cells from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome in response to mitogen, superantigen or recall viral antigens. J. General Virology, 84, 3453–3457.



## WPŁYW STOSOWANIA U MACIOR CIĘŻARNYCH AUTOSZCZEPIONKI PRZECIWKO *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* NA KSZTAŁTOWANIE SIĘ FENOTYPU KOMÓREK MONONUKLEARNYCH KRWI U PROSIĄT SSĄCYCH

### INFLUENCE OF AUTOVACCINATION OF PREGNANT SOWS AGAINST *ARCANOBACTERIUM PYOGENES* ON THE MONONUCLEAR BLOOD CELLS PHENOTYPE IN SUCKLING PIGLETS

Łukasz Jarosz, Zbigniew Grądzki, Marcin Kalinowski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: lukasz.jarosz@up.lublin.pl

Zakażenia *A. pyogenes* u trzody chlewnej są przyczyną znacznych strat ekonomicznych. Bakteryjna etiologia choroby stwarza możliwość wykorzystywania antybiotykoterapii jako jednej z metod leczenia. Stosowanie antybiotyków skutkuje jednak pojawianiem się szczepów opornych, co utrudnia proces leczenia, a dodatkowo przyczynia się do kumulacji leków w tkance mięśniowej. Alternatywną metodę zwalczania zakażeń *A. pyogenes* może stanowić czynne uodpornianie zwierząt przy użyciu autoszczepionek. Strategia taka zalecana jest zwłaszcza w odniesieniu do macior ciężarnych, których potomstwo staje się odporne na zakażenie w trakcie ciąży, porodu i po porodzie.

**Cel badań:** Ocena profilu odpowiedzi immunologicznej u prosiąt ssących po podaniu ciężarnym maciom autoszczepionki przeciwko zakażeniu *A. pyogenes*.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na fermie hodowlanej trzody chlewnej, w której stwierdzono endemiczne występowanie zakażeń *A. pyogenes*. Do badań wyselekcjonowano dwie grupy prosiąt liczące po 8 losowo wybranych zwierząt. Grupę I, doświadczalną tworzyły prosięta pochodzące od macior, którym podawano autoszczepionkę w trakcie ciąży. Prosięta z grupy II pochodzące od macior nie szczepionych stanowiły kontrolę. Krew do badań pobierano od prosiąt z obu grup w dniu 0, tj. przed pobraniem siary oraz w 7., 14., 21. i 28. dniu życia. Oceny profilu odpowiedzi immunologicznej dokonano, opierając się na analizie cytometrycznej odsetka limfocytów T o fenotypie CD4, CD8 i CD25 oraz limfocytów B o fenotypie CD21 i B-cell Subset. Oznaczenia wykonywano w cytometrze przepływowym Epics XL (Beckman-Coulter, Comesa CH-Werfen Co USA). W badaniach wykorzystywano przeciwciała monoklonalne przeciwko cząsteczkom powierzchniowym CD4, CD8 i CD25 na limfocytach T świń (Serotec Immunological Excellence Oxford, England) oraz przeciwko cząsteczkom CD21 i B-cells na limfocytach B (Beckman Coulter, Inc.)

**Wyniki i omówienie:** W grupie doświadczalnej w całym okresie doświadczenia stwierdzano wyższy, w porównaniu z kontrolą, odsetek limfocytów T wykazujących ekspresję cząsteczki CD4+. Podobną zależność wykazano w odniesieniu do dynamiki kształtowania się odsetka komórek o fenotypie CD25+, który był statystycznie istotnie wyższy w grupie doświadczalnej w porównaniu z kontrolą z wyjątkiem oznaczenia w 28. dniu życia, w którym wartość badanego parametru była zbliżona do wyliczonej dla grupy kontrolnej. Odmienne przedstawiała się dynamika kształtowania się odsetka limfocytów T z ekspresją cząsteczki CD8+. W całym okresie doświadczenia wartości badanego parametru były wyższe w grupie kontrolnej w porównaniu z odpowiednimi wartościami w grupie doświadczalnej. Analiza wartości odsetka limfocytów B-cells wykazała, iż we wszystkich terminach wykonywania oznaczeń był on wyższy w grupie doświadczalnej w porównaniu z kontrolą. Podobną zależność stwierdzono w odniesieniu do subpopulacji limfocytów B z ekspresją CD21+. Uzyskane wyniki dowodzą, zależnej od antygeny, mobilizacji komórek T pamięci immunologicznej oraz efektorowych, odgrywających istotną rolę w zwalczaniu zakażenia. Wysoki, w grupie doświadczalnej, odsetek limfocytów B świadczy o stymulacji tych komórek w odpowiedzi na antygen szczepionkowy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Rooke J.A., Bland I.M., 2002. The acquisition of immunity in the newborn piglet. *Livestock Prod. Sci.*, 78, 13–23.
- [2] Saalmuller A., Werner T., Fachunger V., 2002. T helper cells from naïve to committed. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 87, 137–145.



## ZALEŻNOŚĆ CECH EJAKULATU I MORFOLOGII PLEMNIKÓW OD OBJĘTOŚCI EJAKULATU KNURÓW RASY DUROC

### DEPENDENCE OF THE CHARACTERISTICS OF THE EJACULATE AND SPERM MORPHOLOGY ON THE VOLUME OF EJACULATE BREED DUROC BOARS

Stanisław Kondracki, Krzysztof Górski, Marta Denisiuk

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny, Wydział Przyrodniczy, Katedra Rozrodu i Higieny Zwierząt,  
ul. Prusa 14, 08-110 Siedlce, e-mail: sk@uph.edu.pl

Odpowiedni i nie uszkodzony stan strukturalny plemników oraz ich przenikanie przez warstwy okrywające komórkę jajową decydują o zdolności zapładniającej plemników. Liczba anomalii morfologicznych plemników oraz ich rodzaj w nasieniu samców zwierząt obrazuje stopień nieprawidłowości spermatogenezy. W związku z tym badania morfologiczne plemników w sposób najbardziej obiektywny określają wartość nasienia. Rasa Duroc należy do ras ojcowskich. Ejakulatory pozyskiwane od knurów tej rasy cechują się małą objętością, ale dużą koncentracją plemników. Knury rasy Duroc osiągają również później dojrzałość płciową w porównaniu z innymi rasami.

**Cel badań:** Ocena zależności cech ejakulatu i morfologii plemników od objętości ejakulatu knurów rasy Duroc.

**Materiał i metody:** Badaniami objętych zostało 121 ejakulatów pobranych od 12 knurów rasy Duroc użytkowanych w trzech stacjach należących do Mazowieckiego Centrum Hodowli i Rozrodu Zwierząt w Łowiczu. Próbkę ejakulatu do badań morfologii plemników pobierano od każdego knura raz w miesiącu. Z pobranych próbek wykonano preparaty mikroskopowe. W każdym preparacie dokonano pomiarów morfometrycznych piętnastu losowo wybranych plemników. Przeprowadzono ocenę częstości występowania zmian morfologicznych, która umożliwiła wyszczególnienie plemników ze zmianami głównymi i podrzędnymi według klasyfikacji Bloma. Obliczono także wskaźniki budowy morfologicznej plemników. Zgodnie z metodami stosowanymi w polskich stacjach unasienniania loch dokonano standardowej oceny badanych ejakulatów. Zebrany materiał podzielono według kryterium objętości ejakulatu, wyodrębniając trzy grupy: ejakulatory o objętości 160 ml i poniżej (grupa I), ejakulatory o objętości 161–200 ml (grupa II), ejakulatory o objętości 201 i powyżej (grupa III).

**Wyniki i omówienie:** Największą koncentrację plemników stwierdzono w ejakulatach knurów z grupy I o najmniejszej objętości. Koncentracja plemników w grupie I wyniosła ponad 545 tys./mm<sup>3</sup> i była o około 49 tys./mm<sup>3</sup> większa niż w grupie III ( $P \leq 0,05$ ). Z danych tych wynika, że objętość ejakulatu jest odwrotnie proporcjonalna do koncentracji plemników. Największą ogólną liczbą plemników odznaczały się ejakulatory z grupy o objętości powyżej 200 ml. W tej grupie ogólna liczba plemników była o około 18 mld większa niż w grupie II ( $P \leq 0,01$ ) i o około 36 mld większa niż w grupie I ( $P \leq 0,01$ ). Z ejakulatów knurów rasy Duroc o objętości powyżej 200 ml sporządzono najwięcej dawek inseminacyjnych (31,24 sztuk), o około 13 więcej niż w grupie I ( $P \leq 0,01$ ) oraz o około 7 więcej niż w grupie II ( $P \leq 0,01$ ). Otrzymane wyniki dotyczące nasienia knurów rasy Duroc zdają się potwierdzać wyniki innych autorów podające, że samce tej rasy cechują się między innymi małą objętością ejakulatu i zawartością w nim plemników [1]. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że najlepszą jakością nasienia charakteryzowały się ejakulatory o objętości od 161–200 ml (grupa II). Odsetek plemników o prawidłowej budowie morfologicznej w tej grupie wynosił 94,97% i był o 1,45% większy od odsetka plemników prawidłowo zbudowanych z grupy I objętości oraz o 4,01% większy niż w grupie III ( $P \leq 0,05$ ). Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że ejakulatory o dużej koncentracji plemników zawierają plemniki o krótszych wtkach niż ejakulatory o mniejszej koncentracji.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Smital J., 2009. Effects influencing boar semen. Anim. Reprod. Sci., 110:3–4, 335–346.
- [2] Owsiany J., Czarnecki R., Dziadek K., Fiałkowska B., 1999. Porównanie cech przydatności rozplodowej młodych knurów rasy Duroc, linii 990 i linii 890. Zesz. Nauk. AR Kraków 352, 239–244.





## ZMIANY MORFOLOGICZNE W ZAKRĘCIE HIPOKAMPA (PRZYHIPOKAMPOWYM) PO PODAWANIU DEKSAMETAZONU ŚWINIOM

### MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE PARAHIPPOCAMPAL GYRUS AFTER DEXAMETHASONE ADMINISTRATION DOMESTIC IN PIG

Iwona Łuszczewska-Sierakowska<sup>1</sup>, Ewa Śliwa<sup>3</sup>, Marcin Tatara<sup>2</sup>, Agata Wawrzyniak-Gacek<sup>1</sup>,  
Małgorzata Matysek<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Anatomii i Histologii Zwierząt, <sup>2</sup>Zakład Fizjologii Zwierząt, <sup>2</sup>Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt  
<sup>3</sup>Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej z Endodoncją,  
ul. Karmelicka 7, 20-081 Lublin

W ostatnich latach ukazały się prace wskazujące, że przewlekła ekspozycja na podwyższony poziom glikokortykosteroidów powoduje zmiany degeneracyjne w ośrodkowym układzie nerwowym. Zmiany te występują zarówno w wyniku działania endogennych glikokortykosteroidów, jak i preparatów glikokortykosteroidowych. Przeprowadzone badania własne po podaniu dexametazonu miały na celu ocenę zmian morfologicznych i histologicznych w zakręcie przyhipokampowym. Zakręt przyhipokampowy (*gyrus parahippocampalis*) jest strukturą korową należącą do układu limbicznego. Jest on złożony z następujących struktur korowych: pole śródwęchowe (*area entorhinalis*), przypodporę (*parasubiculum*) oraz przedpodporę (*presubiculum*).

**Materiał i metody:** Materiałem do badań były mózgowia świń pobrane z poszczególnych okresów: nowo narodzone zwierzęta, 14-dniowe, 30-dniowe. Dexametazon był podawany domięśniowo ciężarnym maciorom w dawce 3 mg co 48 h od 91. dnia ciąży do dnia porodu. Pobrane mózgowia utrwalano (w zbuforowanej 10% formalinie). Następnie według metody standardowej – odwadniano we wzrastających stężeniach alkoholu etylowego, zatapiano w bloczki parafinowe. Bloczki krojono w płaszczyznach: czołowej, strzałkowej oraz poziomej na skrawki o grubości 12 µm. Uzyskane preparaty barwiono: luksolem, fioletem krezolowym według metody Klüvera i Barrery oraz eozyną i hematoksyliną.

**Wyniki i omówienie:** Wyniki uzyskane z badań preparatów w mikroskopie świetlnym wykazują obecność istotnych zmian morfologicznych w neuronach w obrębie zakrętu przyhipokampowego po podaniu poszczególnych dawek dexametazonu. W preparatach barwionych fioletem krezolu, jak również przy zastosowaniu rutynowego barwienia hematoksyliną i eozyną obserwowano obkurczanie komórek nerwowych oraz znaczne zmniejszenie liczby komórek. Komórki nerwowe zakrętu przyhipokampowego są mniej wrażliwe wobec toksycznego działania dexametazonu w porównaniu z neuronami hipokampa właściwego.

#### References:

- [1] Dean F, Matthews SG. Maternal dexamethasone treatment in late gestation alters glucocorticoid and mineralocorticoid receptor mRNA in the fetal guinea pig brain. *Brain Res* 1999; 846:253-259.
- [2] Banjanin S, Kapoor A, Matthews SG. Prenatal glucocorticoid exposure alters hypothalamic-pituitary-adrenal function and blood pressure in mature male guinea pigs. *J Physiol* 2004; 558:305-318.
- [3] Shoener JA, Baig R, Page KC. Prenatal exposure to dexamethasone alters hippocampal drive on hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in adult male rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290:R1366-R1373.





## ANALIZA WPŁYWU NIENASYCONYCH KWASÓW TŁUSZCZOWYCH POCHODZĄCYCH Z NOWEJ GENERACJI JAJ NA PARAMETRY ELEKTROFIZJOLOGICZNYCH SERCA U ŚWIŃ Z DOŚWIADCZALNĄ TACHYKARDIOMIOPATIĄ

### ANALYSIS OF INFLUENCE UNSATURATED FATTY ACIDS FROM NEW GENERATION EGGS ON ELECTROPHYSIOLOGICAL PARAMETERS OF HEART IN SWINE WITH EXPERIMENTAL TACHYCARDIOMYOMAPHY

Agnieszka Noszczyk-Nowak<sup>1</sup>, Urszula Paśławska<sup>1</sup>, Józef Nicpoń, Adrian Janiszewski<sup>2</sup>, Piotr Skrzypczak<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytetu Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: agnieszkann@poczta.onet.pl

<sup>2</sup>Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy, ul. Kamińskiego 73a, 51-124 Wrocław

<sup>3</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław

**Cel badań:** Ocena wpływu DHA pochodzących z nowej generacji jaj na repolaryzację komory u świń z doświadczalną tachykardiomiopatią.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły 24 świny: 12 świń z tachykardiomiopatią wywołaną za pomocą jednojamowego stymulatora Sensia SR narzucającego rytm 170/min, otrzymujących standardową paszę i 12 świń z tachykardiomiopatią otrzymujących paszę z dodatkiem suplementu zawierającego 1000 mg DHA. U wszystkich świń wykonano badanie EKG przed wszczepieniem stymulatora oraz badanie elektrofizjologiczne ze stymulatora tuż po jego wszczepieniu. Po 14 dniach od wszczepienia stymulator zaprogramowano w trybie VVI 170/min. Badanie EKG oraz EP ze stymulatora przeprowadzano po 4 i 8 tyg. podawania DHA.

**Wyniki i omówienie:** Obie grupy zwierząt w badaniu początkowym nie różniły się od siebie. Po 8 tygodniach szybkiej stymulacji świny w obu grup wykazywały objawy niewydolności serca. W badaniu echokardiograficznym stwierdzono poszerzenie jam serca oraz spadek funkcji skurczowej lewej komory. Po 8 tygodniach stymulacji w grupie świń z tachykardiomiopatią otrzymujących DHA stwierdzono istotne skrócenie czasów refrakcji komory na rytmie narzuconym 130/min (460+1 271 ms±28,21 vs 184,7 ms±54,2; 460+2 206,5 ms±34,0 vs 158,6 ms±13,7; 460+3 172,1 ms ±31,4 vs poniżej 156 ms) i 150/min (400+1 242,1 ms ±21,4 vs 175,6 ms ±39,7; 400+2 182,6 ms ± 20,34 vs 157,3 ms ±15,2; 400+3 159,6 ms ±19,8 vs poniżej 156 ms). W grupie świń z tachykardiomiopatią nieotrzymujących DHA badane parametry uległy istotnemu wydłużeniu (460+1 250,7 ms ±21,2 vs 298,7 ms ±14,7; 460+2 191,4 ms ±47,5 vs 240,1 ms ±24,5; 460+3 171,4 ms ±26,7 vs 210,1 ms ±25,1; 400+1 232,7 ms ±17,2 vs 272,3 ms ±17,2; 400+2 171,7 ms ±27,1 vs 226,7 ms ±29,2; 400+3 158,8 ms ±18,4 vs 210,4 ms ±25,2). Nie stwierdzono zmian czasu trwania QT, QTc w żadnej z grup. Wyniki te są zgodne z Verkerk i wsp., którzy badali zmiany w obrębie kanałów jonowych kardiomiocytów komór serca izolowanych od świń po 8 tygodniach stosowania diety bogatej w olej rybi [1]. Badacze ci stwierdzili skrócenie trwania potencjału czynnościowego kardiomiocytów świń na diecie bogatej w olej rybi. Było to związane ze zwiększeniem gęstości kanałów potasowych  $I_{K1}$ ,  $I_{Ks}$  i zmniejszeniem gęstości wymiennika jonowego  $Na^+-Ca^{2+} I_{NCX}$  i kanałów wapniowych typu  $L I_{Ca,L}$ . Podawanie DHA pochodzących z nowej generacji jaj wpływa istotnie na zmianę czasu refrakcji komory, już po 8 tygodniach stosowania DHA.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Verkerk A.O., Ginnekan A.C., Berecki G., Ruijter H.M., Schumacher C.A., Veldkamp, A. Baartscheer M.W., Casini S., Ophthof T., Hovenier R., Fiolet J.W., Zock P.L., Coronel R., 2006. Incorporated sarcolemmal fish oil fatty acids shorten pig ventricular action potentials. *Cardiovasc Res.*, 70, 509–520.

Praca finansowana ze środków „Innowacyjne technologie produkcji biopreparatów na bazie nowej generacji jaj (OVOCURA)” POIG.01.03.01-00-133/08-pt. Projekt współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego realizowany w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007–2013.



## EKSPRESJA INOS JEST NIEHOMOGENNA W NIEWYDOLNYM MIĘŚNIU SERCOWYM

### INOS EXPRESSION IS NONHOMOGENIC IN THE FAILING HEART

Urszula Paślawska

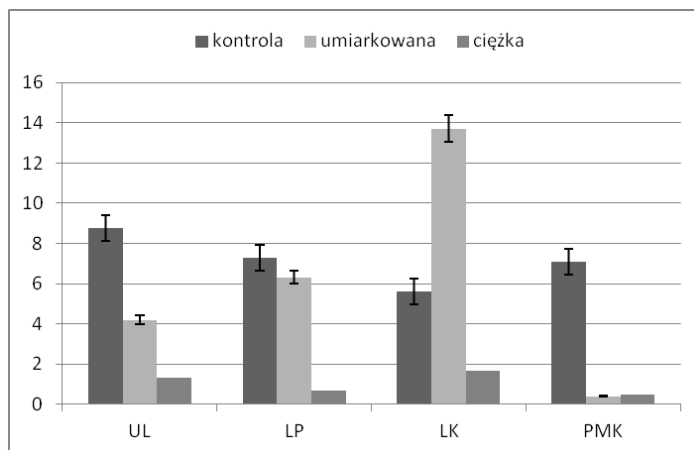
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47 50-366 Wrocław, e-mail: urszula.paslawska@wp.pl

Tlenek azotu (NO), wykazuje ważne i wielokierunkowe wpływy: rozkurcza ściany naczyń krwionośnych poprzez wpływ bezpośredni, a także za pośrednictwem cyklicznej guanylowej i cGMP, hamuje agregację płytek krwi i adhezję leukocytów do śródbłonna naczyń. NO ma znaczenie nie tylko w progresji, ale również w powstaniu niewydolności krążenia. Znane są obecnie trzy najważniejsze syntazy NO: neuronalna (nNOS), indukowalna (iNOS) i pochodząca z endotelium (eNOS). nNOS i eNOS są ekspresjonowane konstytutywnie i wytwarzają niewielkie ilości NO. Natomiast iNOS odpowiedzialna za powstawanie dużych ilości NO jest aktywowana wieloma czynnikami, m.in. endotoksynami bakteryjnymi lub cytokinami prozapalnymi, np. TNF-alfa, IL-1beta. Uważa się, że spadek kurczliwości serca obserwowany w niewydolności serca może być spowodowany nadmierną ekspresją iNOS. Zostało to pośrednio udokumentowane w doświadczeniu, w którym badano biopsaty mięśni szkieletowych ludzi z niewydolnością serca.

**Cel pracy:** Określenie ekspresji iNOS na poszczególnych etapach niewydolności serca w poszczególnych jego częściach.

**Materiał i metody:** Wszczepiono rozruszniki u 26 świń. Świnie podzielono na 5 grup badawczych wg NYHA skali niewydolności serca i poddawano eutanazji po osiągnięciu odpowiednich klas NYHA. Wykonano badanie autopsyjne i pobrano próbki tkanki mięśnia sercowego do badania histopatologicznego oraz oznaczenia indukowalnej iNOS i dialdehydu malonowego (MDA)

**Wyniki i omówienie:** Badanie echokardiograficzne wykazało postępujące poszerzenie lewego przedsionka i komory, co jest świadectwem patologicznej przebudowy serca oraz spadek frakcji skracania i frakcji wyrzucania, co jest dowodem pogarszania się wydolności serca. Przeprowadzone badania wskazują, że synteza tlenu azotu zwiększa się wraz z narastaniem niewydolności serca i załamuje się w krańcowej niewydolności serca. Stwierdzono istnienie statystycznie istotnych zmian ekspresji iNOS pomiędzy samcami i samicami. Różnice te są największe w pierwszym okresie rozwoju niewydolności serca. Wykonano również oznaczenia u wybranych świń ekspresji iNOS w poszczególnych częściach serca, tj. prawym i lewym przedsionku, prawym i lewym uszku lewego przedsionka, prawej i lewej komorze oraz przegrodzie międzykomorowej. Wykazano istnienie różnic pomiędzy poszczególnymi częściami serca. To wskazuje, że synteza iNOS jest niehomogenna w tkance mięśnia sercowego.



#### Piśmiennictwo:

- [1] Adams V., Yu J., Möbius-Winkler S., 1997. Increased nitric oxide synthase in skeletal muscle biopsies from patients with chronic heart failure. *Biochem. Mol. Med.*, 61, 152–160.
- [2] Lopez-Farre C.C., Esteban A., Alberola M.L., Millas I., Monton M., Casado S., 1995. Effects of aspirin on platelet-neutrophil interactions: role of nitric oxide and endothelin-1. *Circulation.*, 91, 2080–2088.
- [3] Nelson R.J., Demas G.E., Huang P.L., Fishman M.C., Dawson V.L., Dawson T.M., 1995. Behavioural abnormalities in male mice lacking neuronal nitric oxide synthase. *Nature*, 378, 383–386.

Badania finansowane ze środków NCN (N N308 387837).

## OCENA MASY ŚWIŃ NA PODSTAWIE POMIARÓW CIAŁA

## THE BODY WEIGHT ASSESSMENT OF THE PIGS USING EXTERNAL BODY MEASUREMENTS

Robert Paślawski<sup>1</sup>, Adrian Janiszewski<sup>2</sup>, Urszula Paślawska<sup>3</sup>, Maciej Staszczuk<sup>3</sup>, Jacek Bania<sup>4</sup>, Liliana Kiczak<sup>3</sup>, Ewa Jankowska<sup>1</sup>, Piotr Ponikowski<sup>1</sup>, Józef Nicpoń<sup>3</sup>, Andrzej Szuba<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Akademia Medyczna we Wrocławiu, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Zawodowych i Nadciśnienia Tętniczego, ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław

<sup>2</sup>Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy, ul. Kamińskiego 73a, 51-124 Wrocław

<sup>3</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, <sup>4</sup>Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław  
e-mail: robert.paslowski@wp.pl

Znajomość masy ciała świni odgrywa istotne znaczenie, nie tylko przy sprzedaży tych zwierząt, ale również podczas interwencji lekarsko-weterynaryjnej. Nie zawsze właściciel zwierzęcia dysponuje wagą, a sytuacja staje się szczególnie trudna, gdy zwierzę o dużej masie ciała leży i nie udaje się go zmusić do wstania. Masa ciała jest wówczas szacowana na podstawie wyglądu zwierzęcia, co może być obciążone dużym błędem. W tej sytuacji podjęto próby znalezienia prostego oznaczenia parametru, który umożliwiłby dokonanie przybliżonej oceny masy ciała świni na podstawie pomiarów wybranych części ciała.

**Materiał i metody:** Do badania włączono 63 lochy rasy wielka polska biała. Dokonywano pomiarów miarką krawiecką centymetrową: długości grzbietu – od nasady ogona, wzdłuż kręgosłupa do podstawy ucha, odległości od łokcia do pachwiny, obwodu kończyny tylnej tuż powyżej stawu skokowego nad guzem piętowym, obwód śródreżca bezpośrednio pod stawem nadgarstka, obwód szyi mierzony za nasadą małżowin usznych, szerokość tarczy ryjowej oraz wysokość tarczy ryjowej. Świnie znieczulano mieszaniną midazolam +ketamina +medetomidyna i.m.

**Wyniki i omówienie:** Wyniki pomiarów zoometrycznych u dorosłych świń w zależności od masy ciała oraz współczynnik korelacji przedstawia tabela:

	Masa ciała				korelacja
	135–150	151–200	201–250	250–300	
Obwód szyi	91±2,8	98±2,1	106±5,5	113±4,7	0,77
Podstawa ucha-podstawa ogona	124±1	132±15,7	148±6,6	154±7,6	0,67
Pachwina-łokieć	60,5±3,5	65±4,6	63±7,1	67±7,8	0,18
Obwód nadgarstka	17±1	18±1,5	20±0,8	21±1	0,61
Obwód stawu skokowego	26±1	31±2,1	32±1,7	35±1,7	0,7
Tarcza ryjowa pionowo	6,75±0,35	7,5±0,5	8±0,64	8±0,62	0,58
Tarcza ryjowa poziomo	8,5±0,7	10±0,5	10±0,8	10±0,84	0,26
Szyja + skok	258±3	280±21	306±11	321±14,5	0,82

Stwierdzono istotny statystycznie związek pomiędzy masą ciała i wszystkimi badanymi parametrami z wyjątkiem odległości łokieć pachwina. Najwyższą korelację wykazuje obwód szyi, a następnie obwód kończyny tylnej ponad stawem skokowym.

Praca jest częścią projektu „WroVasc” – Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo-Naczyniowej”, współfinansowanego przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego, w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka na lata 2007–2013 realizowanego w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym we Wrocławiu, Ośrodku Badawczo-Rozwojowym.



## AKTYWNOŚĆ MIOELEKTRYCZNA JAJOWODÓW I MACICY U ŚWINI WE WCZESNEJ CIĄŻY RESTROWANA PRZY UŻYCIU TELEMETRII

### SOW OVIDUCT AND UTERUS MIOELECTRICAL ACTIVITY RECORDING DURING EARLY PREGNANCY USING TELEMETRY METHOD

**Bartosz Pawliński, Zdzisław Gajewski, Romuald Zabielski, Małgorzata Domino**

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, Zakład Rozrodu Zwierząt, Andrologii i Biotechnologii Rozrodu, ul. Nowoursynowska 100, 02-797 Warszawa, e-mail: bartosz\_pawlinski@sggw.pl

Zbadanie i zrozumienie mechanizmów odpowiadających za aktywność motoryczną jajowodu i macicy jest podstawą do zrozumienia wszystkich fizjologicznych i patologicznych procesów zachodzących w układzie rozrodczym.

**Cel badań:** Rejestracja sygnału emg z macicy i jajowodu loszek w cyklu rujowym i we wczesnej ciąży.

**Materiał i metody:** Do badań wykorzystano elektrody dwubiegunowe własnej konstrukcji kształtem dopasowane do anatomicznej budowy jajowodu i macicy. Badania przeprowadzono na 8 świnich (95–115 kg m.c.). Podczas zabiegu operacyjnego naszyto elektrody na bańkę i cieśń jajowodu oraz macicę, które były połączone z 3-kanałowym implantem TL10M3-D70-EEE (DSI, USA). Nadajnik został umieszczony poza-otrzewnowo pomiędzy mięśniami ściany jamy brzusznej. Aktywność emg rejestrowana przez elektrody była następnie wysyłana przez implant do odbiornika (RMC-1). Dzięki systemowi filtrów i wzmacniacza (A10/DL10) zarejestrowany sygnał trafiał do 4-kanałowego PowerLab, a następnie do pamięci komputera. Wysyłany sygnał był próbkowany z prędkością 40/sek, filtrowany w zakresie 10–50 Hz, a następnie analizowany off-line. W celu ustalenia fazy cyklu i monitorowania przebiegu ciąży, synchronicznie wraz z zapisem emg była pobierana krew do oznaczeń stężenia LH, P<sub>4</sub>. Świnie synchronizowano przez podanie eCG i hCG i.m. (Werfaser, Fa. Alvetra, Austria) oraz sztucznie unasienniane w 24. i 48. godzinie (od podania hCG). Osiemnastego dnia po zabiegu sztucznego unasienniania, zwierzęta były poddawane ubojowi, zgodnie z obowiązującymi przepisami. Macica oraz jajniki poddawano ocenie morfologicznej. Z macicy były pobierane zarodki w celu oceny ich jakości oraz żywotności.

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone badania dowiodły, że zaproponowana technika telemetrii pozwala na wykonanie rejestracji aktywności bioelektrycznej mięśniówki gładkiej badanych odcinków układu rozrodczego (macica, jajowód) w cyklu rujowym i we wczesnej ciąży. Technika telemetrii pozwala na realizację długotrwałych pomiarów *in vivo* przy zachowaniu dobrostanu badanych zwierząt. Dzięki przedstawionej metodzie możliwe jest prowadzenie badań w okresie wczesnej ciąży, który jest szczególnie ważny do prawidłowego rozwoju zarodków i płodów.



## WPŁYW BIOSEROTYPU I WIEKU ŚWIŃ NA OPORNOŚĆ SZCZEPÓW *YERSINIA ENTEROCOLITICA* NA CHEMIOTERAPEUTYKI

### INFLUENCE OF BIOSEROTYPE AND PIG AGE TO CHEMOTHERAPEUTICS RESISTANCE OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* STRAINS

Karolina Perkowska, Aleksandra Platt-Samoraj, Agata Banczerz-Kisiel, Jan Siemionek,  
Eliza Lipińska, Danuta Pietuź, Wojciech Szweda

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: szweda@uwm.edu.pl

*Yersinia (Y.) enterocolitica* jest szeroko rozpowszechniona w środowiskach lądowym i wodnym, w populacjach różnych gatunków zwierząt gospodarskich, domowych i wolno żyjących, zwłaszcza u świń, stanowiących główny rezerwuar i źródło zakażenia dla ludzi. Aktualnie wyróżnia się 6 biotypów (1A, 1B, 2, 3, 4, 5) i 70 serotypów, z których O:3, O:8, O:9 i O:5,27 stanowią największe zagrożenie dla zdrowia publicznego.

**Cel badań:** Ocena wpływu biotypu, serotypu i wieku świń na występowanie oporności szczepów *Y. enterocolitica* na chemioterapeutyki.

**Materiał i metody:** Do badań użyto 40 szczepów biotypu 1A i 6 biotypu 4 oraz 21 szczepów serotypu O:3, 14 – O:5, 8-O:6, 5 – O:7,13 i 3 – O:8. Do oceny wpływu wieku pobrano 34 szczepy od loch, 10 od warchlaków, 33 od tuczników i 18 od płodów. Badania oporności wykonano zgodnie z zaleceniami CLSI z użyciem 26 chemioterapeutyków.

**Wyniki i omówienie:** Badania wykazały pewne zróżnicowanie wrażliwości szczepów *Y. enterocolitica* w zależności od biotypu i serotypu. Biotypy 1A i 4 zachowały 100% wrażliwość na enrofloksacynę. Biotyp 1A wykazał większą oporność na norfloksacynę, natomiast biotyp 4 na cyprofloksacynę. Wszystkie szczepy obu biotypów okazały się wrażliwe na cefotaksym i cefamandol. Szczepy biotypu 1A były bardziej odporne na cefepim, piperacylinę, ampicylinę/sulbaktam i amoksycylinę, natomiast biotypu 4 na ceftriakson, cefuroksym i cefazolinę. Szczepy obu biotypów wykazały podobną wrażliwość na aminoglikozydy, jedynie w przypadku gentamycyny szczepy biotypu 4 były bardziej odporne. Szczepy biotypu 1A były bardziej odporne na tetracykliny, sulfonamidy i nitrofurantoinę, natomiast biotypu 4 na chloramfenikol.

Serotyp O:7,13 był mniej wrażliwy na norfloksacynę, a O:3 na enrofloksacynę i cyprofloksacynę. W przypadku  $\beta$ -laktamów 14% szczepów serotypu O:5 było opornych na cefepim, pozostałe były wrażliwe. Szczepy serotypu O:6 były 2-krotnie bardziej odporne na piperacylinę, a O:3 i O:8 na cefamandol. Prawie połowa szczepów serotypu O:3 była wrażliwa na ampicylinę/sulbaktam, pozostałe były generalnie odporne. Szczepy serotypu O:3 okazały się bardziej odporne na gentamycynę, natomiast O:5 i O:6 bardziej wrażliwe na streptomycynę. Serotyp O:8 był mniej wrażliwy na oksytetracyklinę, natomiast w pełni na tetracyklinę. Z pozostałych chemioterapeutyków kolistyna była generalnie aktywna wobec wszystkich serotypów, natomiast serotyp O:3 wykazał najmniejszą wrażliwość na chloramfenikol, O:8 na nitrofurantoinę, a O:6 okazał się najbardziej wrażliwy na sulfonamidy.

Wyniki dotyczące oceny wpływu wieku na oporność szczepów *Y. enterocolitica* były bardzo zróżnicowane. Uogólniając, więcej szczepów opornych na badane chemioterapeutyki wyizolowano od warchlaków i loch, mniej od tuczników i płodów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Funk J.A., Troutt H.F., Davis S.A., Fossler C.P., 2000. In vitro susceptibility of *Yersinia enterocolitica* isolated from the oral cavity of swine. J. Food Prot., 63, 395–399.
- [2] Hammerberg S., Sorger S., Marks M.I., 1977. Antimicrobial susceptibilities of *Yersinia enterocolitica* biotype 4, serotype O:3. Antimicrob. Agents Chemother., 11, 566–568.
- [3] Simonova J., Borilova G., Steinhäuser I., 2008. Occurrence of pathogenic strains of *Yersinia enterocolitica* in pigs and their antimicrobial resistance. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 52, 39–43.
- [4] Singh I., Viridi J.S., 2004. In vitro susceptibilities of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A. World J. Microbiol. Biotechnol., 20 329–331.





## WPŁYW IMMUNIZACJI ŚWIŃ ZAWIESINĄ WYSELEKJONOWANYCH SZCZEPÓW *YERSINIA ENTEROCOLITICA* NA DŁUGOŚĆ SIEWSTWA

### EFFECT OF PIG IMMUNIZATION WITH A SUSPENSION OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* SELECTED STRAINS ON DURATION OF BACTERIAL EXCRETION

Aleksandra Platt-Samoraj, Zbigniew Procajło, Elżbieta Mikulska-Skupień, Agata Bancercz-Kisiel,  
Anna Szczerba-Turek, Kinga Syczyło, Wojciech Szweda

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 23, 10-718 Olsztyn, e-mail: platt@uwm.edu.pl

Trzoda chlewna stanowi główny rezerwuár i źródło zakażenia *Yersinia enterocolitica* (*Y. enterocolitica*). Od lat prowadzone są liczne badania na temat skuteczności wykrywania pałeczek *Y. enterocolitica* w żywności i sposobów unikania zanieczyszczenia tusz wieprzowych tym drobnoustrojem w zakładach mięsnych. Dotychczas nie opracowano efektywnych metod zapobiegania zakażeniom. Próby uwolnienia stad świń od tego drobnoustroju z powodu licznych dróg przenoszenia zakończyły się również niepowodzeniem.

**Cel badań:** Ocena wpływu eksperymentalnej immunizacji świń zawiesiną zawierającą wysoce immunogenne szczepy *Y. enterocolitica* na długość siewstwa tych bakterii.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 15 warchlakach ( $n=5$ ) odmiany hybrydowej PIC, o masie ciała ok. 20 kg, którym podano różne dawki zawiesiny wyselekcjonowanych, wysoce immunogennych szczepów *Y. enterocolitica* o gęstości  $2,7 \times 10^9$  cfu/ml, inaktywowanych formolem. Grupa I otrzymała 2 ml, grupa II 5 ml s.c., w iniekcjach dwukrotnych w odstępie dwutygodniowym. Grupa kontrolna otrzymała 5 ml PBS s.c. Ocenę *in vivo* przeprowadzono po doświadczalnym zakażeniu *per os* patogennym szczepem *Y. enterocolitica* O:3.

Od wszystkich zwierząt raz w tygodniu pobierano krew do badań serologicznych na obecność przeciwciał anti-*Y. enterocolitica* mierzonych odczynem ELISA oraz codziennie wymazy z odbytu do badań bakteriologicznych.

**Wyniki i omówienie:** Wyższą skuteczność wykazała dawka 5 ml zawiesiny o gęstości  $2,7 \times 10^9$  cfu/ml. W grupie II, gdzie zwierzęta otrzymały taką dawkę immunizatu, siewstwo zanotowano u 3 spośród 5 zakażonych świń i trwało o 2 tygodnie krócej niż w pozostałych grupach. U świń w grupach I oraz kontrolnej bakterie izolowano od wszystkich zwierząt.

Poziomy przeciwciał mierzone odczynem ELISA narastały od 1. do 3. tygodnia po zakażeniu (tpz), osiągając nieco wyższy poziom w grupie II. Po zakażeniu eksperymentalnym reakcja immunologiczna w obu immunizowanych grupach uległa wzmocnieniu, a poziomy przeciwciał osiągnęły wielokrotną wartość w stosunku do poziomów wywołanych immunizacją. Reakcja immunologiczna w następstwie zakażenia doustnego *Y. enterocolitica* wystąpiła najszybciej i najsilniej w grupie kontrolnej. W 3 tpz poziomy przeciwciał we wszystkich grupach kształtowały się podobnie, utrzymując się na zbliżonym, wysokim poziomie do końca doświadczenia.

Zastosowana immunizacja przeciw zakażeniu *Y. enterocolitica* nie zabezpieczyła w pełni wszystkich zwierząt przed zakażeniem i siewstwem, ale ograniczyła siewstwo drobnoustrojów i czas jego trwania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bottone E.J., 1999. *Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates. *Microbes Infect.*, 1, 323–333.
- [2] Nesbakken T., Iversen T., Lium B., 2007. Pig herds free from human pathogenic *Yersinia enterocolitica*. *Emerg. Infect. Dis.*, 13, 1860–1864.
- [3] Mosmann T., 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol.*, 52, 67–74.
- [4] McVey D.S., Galvin J.E., Olson S.C., 2003. A review of the effectiveness of vaccine potency control testing. *Int. J. Parasitol.*, 33, 507–516.



## OCENA WYBRANYCH PARAMETRÓW HEMOSTAZY U ŚWIŃ W OKRESIE WZROSTU

### ASSESSMENT OF CHOOSEN HEMOSTATIC PARAMETERS IN PIGS IN MATURATION PERIOD

**Aleksandra Pliszcak-Król, Anna Rząsa, Marianna Gemra, Grzegorz Łuczak, Artur Zyzak,  
Alicja Iwaszko-Simonik, Stanisław Graczyk**

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Immunologii,  
Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław,  
e-mail: aleksandra.krol@up.wroc.pl*

Hemostaza (krzepnięcie krwi i fibrynoliza) jest mechanizmem złożonym, na który składają się interakcje komórkowe ze szczególną rolą płytek krwi (hemostaza pierwotna) i reakcje chemiczne z udziałem białek osocza (hemostaza wtórna). Ta złożoność powoduje, że uzyskanie pełnej sprawności wszystkich jej komponent wymaga czasu i jest zależne od zmian w organizmie zachodzących w trakcie wzrostu i dojrzewania. Świnie cechują się intensywnym wzrostem i przyspieszonym dojrzewaniem w ciągu relatywnie krótkiego czasu. I choć wiele już wiadomo, to jednak dane dotyczące parametrów hemostazy u świń przed osiągnięciem dojrzałości somatycznej nadal pozostają niekompletne. Dlatego podjęto badania mające na celu ocenę parametrów hemostazy pierwotnej i wtórnej u świń w okresie pierwszych 6 miesięcy życia.

**Materiały i metody:** Do badań użyto 15 prosiąt różnej płci, mieszańców towarowych pbzwbpx wbp, od których w 2., 21., 28., 35., 42., 70. i 168. dniu życia pobierano krew do badań. Hemostazę pierwotną oceniano na podstawie: ogólnej liczby płytek, średniej objętości płytki, odsetka płytek olbrzymich mierzonych z użyciem analizatora hematologicznego PROCAN PE – 6800. Do oceny sprawności hemostazy wtórnej zmierzono: czas protrombinowy (PT), czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT), czas trombinowy (TT) oraz stężenie fibrynogenu w osoczu za pomocą koagulometru Coag Chrom 3003.

**Wyniki i omówienie:** U najmłodszych prosiąt (2-dniowych) zaobserwowano najniższą liczbę płytek krwi – 440 tys./ $\mu$ l. Cechowały się one największą objętością (9,9 fl). Zanotowano też najwyższy odsetek płytek olbrzymich – 19,2. Liczba płytek u prosiąt starszych była już wyższa i nieznacznie zróżnicowana (448–690 tys./ $\mu$ l) – różnice nie przekraczały 140 tysięcy płytek / $\mu$ l. Objętość ich jednak była mniejsza i wynosiła 8,4–9,7 fl. Odsetek płytek olbrzymich u starszych osobników był także niższy i oscylował pomiędzy 7,7–15,3. Dłuższe czasy PT (16,8 sek.) i TT (23,4 sek.) zanotowano u prosiąt 2-dniowych. PT i TT u prosiąt starszych były już krótsze (PT: 11,6–14,9 sek. i TT: 14,4–23, 3 sek.) i tylko nieznacznie zróżnicowane w poszczególnych przedziałach wiekowych. Istotne zmiany u badanych prosiąt dotyczyły głównie czasu APTT. Początkowo bardzo krótki APTT (17,8–20,9 sek.), mierzony u prosiąt pomiędzy 2. a 35. dniem życia, uległ znacznemu wydłużeniu odpowiednio do: 32,4 sek. w 42. dniu, 53,4 sek. w 70. dniu i 36,2 sek. w 168. dniu. Stężenie fibrynogenu w osoczu, początkowo bardzo niskie u prosiąt 2-dniowych (2 g/l) wykazywało w miarę dorastania zwiertną tendencję wzrostową (4,2–6,5 g/l). Analiza zebranych wyników wykazała, iż parametry płytkowe (hemostazy pierwotnej) zmieniały i stabilizowały się już w pierwszych dniach życia prosiąt, a więc w znacznie krótszym czasie niż parametry osoczowe związane z hemostazą wtórna. Wskazuje to na różny czas dojrzewania poszczególnych komponent całego mechanizmu hemostazy.

*Praca finansowana ze środków MNiSzW (N N311 265038).*



## WPŁYW ŻYWIENIA PASZĄ WZBOGACONĄ KOMPONENTAMI ŻÓŁTKA JAJA KURZE- GO NA PARAMETRY HEMOSTAZY PIERWOTNEJ I WTÓRNEJ U ŚWIŃ

### INFLUENCE OF A FODDER SUPPLEMENTED WITH EGG YOLK COMPONENTS ON PARAMETERS OF PRIMARY AND SECONDARY HEMOSTASIS IN PIGS

Aleksandra Pliszczak-Król, Anna Rząsa, Marianna Gemra, Grzegorz Łuczak, Artur Zyzak,  
Alicja Iwaszko-Simonik, Stanisław Graczyk

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Immunologii,  
Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław,  
e-mail: aleksandra.krol@up.wroc.pl

Uchybienia w procedurach chowu prosiąt mogą prowadzić u nich do poważnych problemów zdrowotnych, a nawet do śmierci. Zaburzenia zdrowia czy ostatecznie śmierć powiązane bywają często m.in. z zaburzeniami mechanizmów zarówno pierwotnej, jak i wtórnej hemostazy. Badania związane z poprawą jakości żywienia prosiąt poprzez dodanie żółtka jaj kurzych wykazały, że zwierzęta żywione w ten sposób cechowały się wyższymi przyrostami masy ciała i lepszą kondycją zdrowotną. To zachęciło nas do podjęcia dalszych badań mających na celu stwierdzenie, czy dodatek żółtka jaj pochodzących od kur immunizowanych szczepionką *Porcillus parcoli* będzie miało podobny efekt i czy w jakiś sposób wpłynie na parametry hemostazy.

**Materiały i metody:** Badaniami objęto 21 prosiąt, mieszańców towarowych pbzwbpx wbp, które podzielono na 3 grupy liczące po 7 osobników. Grupa K stanowiła kontrolę doświadczenia. Grupa A była żywiona paszą z dodatkiem żółtka jaj kur nieimmunizowanych. Grupa B otrzymywała paszę suplementowaną żółtkiem jaj kur immunizowanych szczepionką *Porcillus por coli*. W 21., 28., 35., 42. dniu pobierano od wszystkich prosiąt krew do badań. Do oceny hemostazy pierwotnej, za pomocą analizatora hematologicznego PROCAN 6800, pomierzono: liczbę płytek krwi, ich objętość i odsetek płytek olbrzymich. Hemostazę wtórną oceniano na podstawie pomiarów czasów: protrombinowego (PT), częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT), trombinowego (TT) i stężenia fibrynogenu w osoczu z użyciem koagulometru Coag Chrom 3003.

**Wyniki i omówienie:** Żywienie paszą z dodatkiem żółtka jaj kur immunizowanych *Porcillus parcoli* miało pozytywny wpływ na przyrosty masy ciała u prosiąt, które były wyższe średnio o 2, 5 kg w porównaniu z przyrostami masy prosiąt grupy kontrolnej. Nie miało jednak znaczącego wpływu na badane parametry hemostazy.

Mierzone czasy: PT, APTT i TT niewiele różniły się od tych mierzonych u prosiąt kontrolnych. Jedynie u prosiąt 5-tygodniowych obserwowano krótszy TT o 5 sek. w porównaniu z kontrolą, co sugeruje aktywację w zakresie toru wspólnego krzepnięcia krwi. Powyższy sposób żywienia prosiąt miał też niewielki wpływ na stężenie fibrynogenu w osoczu – tylko u prosiąt 3-tyg. obserwowano niższe stężenie tego białka. Podobnie parametry hemostazy pierwotnej u prosiąt żywionych dodatkiem żółtka jaj kur immunizowanych nie uległy znaczącym zmianom. U prosiąt 3-tyg. stwierdzono wyższą liczbę płytek krwi w porównaniu z prosiętami kontrolnymi. Natomiast pomiędzy 3. a 5-tyg. życia zaobserwowano u badanych zwierząt nieznacznie wyższy odsetek płytek olbrzymich. Na podstawie zebranych wyników można stwierdzić, że żywienie prosiąt paszą z dodatkiem żółtka jaj kur immunizowanych *Porcillus parcoli* nie ma istotnego, kompleksowego wpływu na procesy hemostazy. Jedynie nieznaczny wpływ wydaje się mieć na parametry hemostazy pierwotnej (płytkowej).

Praca finansowana ze środków MNiSzW (N N311 265038).



## STĘŻENIA GŁÓWNYCH BIAŁEK OSTREJ FAZY W SUROWICY ŚWIŃ OD URODZENIA DO UBOJU

### MAJOR ACUTE PHASE PROTEINS IN PIG SERUM FROM BIRTH TO SLAUGHTER

Małgorzata Pomorska-Mól

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Świń,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: mpomorska@piwet.pulawy.pl

Wyniki badań prowadzonych w ostatnich latach na świecie pozwalają przypuszczać, że analiza stężeń białek ostrej fazy (BOF) w surowicy może dostarczyć użytecznych informacji diagnostycznych na temat występowania i nasilenia stanów zapalnych w organizmie zwierząt i ludzi. Szczególne korzyści z oznaczania poziomu BOF wykazano w identyfikacji zakażeń bezobjawowych i podklinicznych stanów zapalnych. Trwają także prace zmierzające do ustalenia, czy i które z BOF mogą się okazać użyteczne w ocenie zdrowia zwierząt przeznaczonych do uboju w kontekście ochrony zdrowia publicznego. Niewątpliwie, aby w pełni wykorzystać możliwości analizy BOF jako wczesnych markerów statusu zdrowotnego, konieczne jest ustanowienie wiarygodnych wartości referencyjnych nie tylko dla różnych gatunków zwierząt, ale i dla zwierząt będących w różnych stanach fizjologicznych i w różnym wieku.

**Cel badań:** Określenie stężeń głównych BOF (CRP, Hp, SAA i Pig-MAP) w surowicy zdrowych świń od urodzenia do uboju.

**Materiał i metody:** W badaniach wykorzystano 60 zdrowych świń (30 samców i 30 samic). Zwierzęta pochodziły z fermy o wysokim statusie zdrowotnym. Stan zdrowia świń był monitorowany w trakcie całego doświadczenia. W celu dodatkowego potwierdzenia stanu zdrowia zwierząt doświadczalnych przeprowadzono także badanie poubojowe w rzeźni. Surowice pochodzące od zwierząt, u których w badaniu poubojowym stwierdzono zmiany patologiczne (n=2), zostały wyłączone z końcowej analizy. Krew od zwierząt pobierano w 1., 2., 3., 4., 6., 8., 10., 13., 16. i 19. tygodniu życia.

Stężenie CRP, Hp, SAA i PigMAP w surowicy określono przy użyciu komercyjnych testów ELISA (Pig C-reactive protein ELISA i Pig haptoglobin ELISA, Life Diagnostics, Inc., USA, Phase Serum Amyloid A Assay, Tridelta Development Ltd, Irlandia; Pig-MAP KIT ELISA, PigCHAMP Pro Europa S.A, Spain). Przed analizą surowice poddawano rozcieńczeniom zależnie od spodziewanej koncentracji BOF (1:100 dla CRP, 1:35000 dla Hp, 1:10 dla SAA i 1:1000 dla Pig-MAP).

**Wyniki i omówienie:** Stężenie wszystkich analizowanych BOF wzrastało wraz z wiekiem zwierząt. Wykazano dodatnią korelację pomiędzy koncentracją CRP, Hp, SAA i Pig-MAP oraz wiekiem zwierząt. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic pomiędzy stężeniem poszczególnych BOF u samic i samców.

Charakterystyczny dla wszystkich analizowanych BOF był istotny wzrost ich stężenia po odsadzeniu (28. dzień życia). Wzrost ten mógł być wynikiem stresu związanego z oddzieleniem od matki i z łączeniem zwierząt w grupy, jak również zmianą sposobu odżywiania. Niewykluczone, że wzrost stężeń BOF w tym okresie mógł być także wynikiem zwiększonej ich syntezy związanej z postępującym rozwojem postnatalnym zwierząt, podobnie jak ma to miejsce w przypadku innych parametrów, w tym wskaźników układu immunologicznego. W związku z wykazaniem istotnego wzrostu stężeń badanych BOF wraz z wiekiem zwierząt kolejne badania powinny skoncentrować się na analizie, w jakim stopniu wzrost stężeń zależy od wieku może wpływać na wartość diagnostyczną analizy BOF.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Pomorska-Mól M., 2010. Białka ostrej fazy u świń – aktualny stan wiedzy. *Med. Wet.*, 66, 732–735.
- [2] Pomorska-Mól M., 2010. Białka ostrej fazy w weterynarii: przydatność w diagnostyce i monitoringu stanu zdrowia *Med. Wet.*, 66, 822–826.

Praca finansowana ze środków MNiSzW (N N308 235938).



## WYDZIELANIE REZYSTYNY Z TRZEWNEJ TKANKI TŁUSZCZOWEJ U PROSIĄT

### RESISTIN *IN VITRO* SECRETION FROM ADIPOSE TISSUE IN PIGLETS

Joanna Zubel, Katarzyna Praisnar, Ewa Oćłoń, Krystyna Pierzchała-Koziec

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt,  
Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Tkanka tłuszczowa charakteryzuje się dużą aktywnością sekrecyjną, a wytwarzane przez nią adipokiny modyfikują wiele ważnych procesów w organizmie, w tym immunologiczne, zaś w szczególności procesy zapalne. Jedną z ważniejszych adipokin jest rezystyna – białko o charakterze prozapalnym, którego poziom jest dodatnio skorelowany z ilością tkanki tłuszczowej i podlega interakcji z szeregiem czynników wydzielanych w organizmie.

Określenie *in vitro* wpływu czynników immunomodulujących – TNF oraz deksametazonu na stopień wydzielania rezystyny z trzewnej tkanki tłuszczowej prosiąt podczas ostrego i chronicznego stanu zapalnego.

**Materiał i metody:** Doświadczenie wykonano na 24 prosiątach (PBZ, wiek – 10 tygodni) podzielonych na dwie grupy – karmione standardowo (chude) i otrzymujące wysokokaloryczną dietę (otyłe, chroniczny stan zapalny). W każdej z tych grup wyodrębniono 2 podgrupy: I – kontrolna, II – ostry stan zapalny (STZ). 24 godziny po iniekcji została pobrana trzewna tkanka tłuszczowa i poddana krótkotrwałej hodowli (20 min) w podłożu Eagle'a z dodatkiem TNF lub deksametazonu. W zebranym medium oznaczono poziom wydzielonej rezystyny przy użyciu gotowego zestawu ELISA (Phoenix Pharmaceuticals).

**Wyniki i omówienie:** Podstawowe wydzielanie rezystyny z trzewnej tkanki tłuszczowej u prosiąt z grupy kontrolnej (zwierzęta chude) kształtowało się na poziomie  $206,29 \pm 17,1$  pg/g tkanki/20min. Zarówno chroniczny, jak i ostry stan zapalny obniżyły sekrecję rezystyny odpowiednio o 74 i 80%. Największy spadek podstawowego wydzielania (o 84%) badanej adipokiny odnotowano w grupie otyłej otrzymującej jednorazową iniekcję STZ. Egzogenny TNF zwiększył wydzielanie rezystyny w grupie kontrolnej o 27% i w największym stopniu z tkanki tłuszczowej pobranej od prosiąt otyłych – o 102%, w stosunku do wydzielania podstawowego. Deksametazon (syntetyczny glikokortykoid) obniżył aktywność wydzielniczą trzewnej tkanki tłuszczowej we wszystkich grupach doświadczalnych. Podsumowując otrzymane wyniki, można stwierdzić, iż zarówno stan zapalny, jak i czynniki immunomodulujące zmieniają *in vitro* sekrecję rezystyny z trzewnej tkanki tłuszczowej prosiąt.

#### Piśmiennictwo:

[1] Banerjee R., Lazar M., 2003. Resistin: molecular history and prognosis., 81, 218–226.

Praca finansowana ze środków MNiSW (NN 311227138).





**SEKCJA  
HIGIENY PASZ**





## HIPOSTYMULACJA PĘCHERZYKÓW JAJNIKOWYCH NIEDOJRZAŁYCH PŁCIOWO SUK JAKO WYNIK EKSPERYMENTALNEJ INTOKSYKACJI ZEARALENONEM

### HYPO STIMULATION OF OVARIAN FOLLICLES IN PRE-PUBERTAL BITCHES AS A RESULT OF EXPERIMENTAL ZEARALENONE INTOXICATION

Magdalena Gajęcka, Ewa Stopa, Michał Dąbrowski, Łukasz Zielonka, Ewa Jakimiuk, Maciej Gajęcki

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, ul. Oczapowskiego 13/01, 10-718 Olsztyn, e-mail: mgaja@uwm.edu.pl

Zwierzęta towarzyszące, a w tym i suki narażone są na kontakt z zearalenonem (ZEA) obecnym w karmach, co jest przyczynkiem różnego rodzaju perturbacji w układzie rozrodczym, których efekty odnotowywane są w klinikach weterynaryjnych.

**Cel badań:** Określenie stopnia hipostymulacji poprzez określenie indeksu proliferacyjnego i apoptotycznego oraz stanu ultrastruktury pęcherzyków jajnikowych, niedojrzałych płciowo suk po eksperymentalnej, niskodawkowej i długoterminowej intoksykacji zearalenonem.

**Materiał i metody:** Doświadczenie zostało przeprowadzone na 30 klinicznie zdrowych, niedojrzałych sukach rasy beagle o początkowej masie ciała  $\pm 8$  kg w wieku 70 dni. Zwierzęta podzielono losowo na 2 grupy doświadczalne (EI i EII) i grupę kontrolną (C; wszystkie  $n=10$ ). Grupa EI otrzymywała 50  $\mu\text{g}$  ZEA/kg mc, *per os* przez okres 42 dni; grupa EII otrzymywała 75  $\mu\text{g}$  ZEA/kg mc, *per os* przez okres 42 dni; grupa C otrzymywała placebo *per os* przez okres 42 dni. Naważki mikotoksyny podawano w żelatynowych kapsułkach codziennie przed porannym karmieniem. Na zakończenie doświadczenia zwierzęta poddano ovariectomii. Z pozyskanych jajników pobrano wycinki do badań immunohistochemicznych (określających indeks apoptotyczny metodą TUNEL i proliferacyjny metodą PCNA) oraz ultrastrukturalnych.

**Wyniki i omówienie:** W piśmiennictwie brak jest prac dotyczących łącznej oceny wpływu wszystkich analizowanych w obecnym materiale wskaźników (obu indeksów oraz ultrastruktura jajnika) podczas długoterminowej intoksykacji zearalenonem niedojrzałych płciowo suk. Dostępne jest natomiast dość bogate piśmiennictwo na temat znaczenia każdego z tych wskaźników rozpatrywanych oddzielnie, lecz nie podczas intoksykacji ZEA, ale u innych gatunków zwierząt, najczęściej laboratoryjnych. W niniejszej pracy badawczej wartości obu indeksów oraz obraz ultrastrukturalny jajnika dostarczyły istotnych informacji o tym, że obecność ZEA w karmach industrialnych dla psów w dawkach bardzo niskich (nawet w wartości NOAEL) przyczynia się do wzmożenia procesu apoptozy, spowolnienia procesów proliferacyjnych oraz niekorzystnych zmian ultrastrukturalnych w pęcherzykach pierwotnych i rozwijających się zarówno w oocytach, jak i w komórkach pęcherzykowych, co jest przyczynkiem do wystąpienia hipostymulacji w pęcherzykach jajnikowych suk. Stopień hipostymulacji jak i atrezji jest wprost proporcjonalny do wielkości dawki ZEA. Analiza powyższych wskaźników w jajniku niedojrzałych płciowo suk stanowi ważny aspekt poznawczy i mogą być one pomocne w zrozumieniu niektórych mechanizmów zachodzących w jajnikach.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Skierski J., 2008. Cytotoxic assays of chemical substances. Post. Biol. Kom., 35 (24), 147–163.
- [2] Motea E.A., Berdis A.J., 2010. Terminal deoxynucleotidyl transferase: The story of a misguided DNA polymerase. BBA-Proteins Proteom 1804, 1151–1166.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego Nr N N308 242635.



## ZNACZENIE DIAGNOSTYCZNE WYBRANYCH WYNIKÓW LABORATORYJNYCH MIKOTOKSYKOZY ZEARALENONOWEJ ZWIERZĄT

### DIAGNOSTIC SIGNIFICATION OF SELECTED LABORATORY RESULTS IN ANIMALS ZEARALENONE MYCOTOXICOSIS

Maciej Gajęcki, Magdalena Mróz, Ewa Stopa, Michał Dąbrowski, Grzegorz Gorlo,  
Magdalena Gajęcka

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Prewencji  
Weterynaryjnej i Higieny Pasz, ul. Oczapowskiego 13/29, 10-718 Olsztyn, e-mail: gajęcki@uwm.edu.pl

Problem mikotoksykoz wywoływanych u ludzi i zwierząt znany jest od bardzo dawna. Dzisiaj nabiera on istotnego znaczenia, zaś mikotoksykoza zearalenonowa, występująca u zwierząt gospodarskich i towarzyszących, jest jedną z nich.

**Cel badań:** Ocena czy niskodawkowa intoksykacja zearalenonem (ZEA) i jego biotransformacja w organizmie wybranych gatunków zwierząt ma wpływ na określone wskaźniki hematologiczne, biochemiczne surowicy krwi, endokrynne, intrakrynne, immunohistochemiczne i morfometryczne.

**Materiał i metody:** W doświadczeniu I wykorzystanych zostało 36 loszek o mc  $\pm$  20 kg, gdzie połowie z nich podawano ZEA w dawce 40  $\mu$ g/kg mc/dzień – 18 zwierzętom; pozostałym podawano placebo. Eksperyment trwał 42 dni. Eutanazje wykonywano w 1., 7., 14., 21., 28., 35. i 42. dniu doświadczenia oraz pobierano próbki do badań laboratoryjnych. Doświadczenie II zostało przeprowadzone na 30 klinicznie zdrowych nie dojrziałych sukach rasy beagle o początkowej mc  $\pm$  8 kg w wieku 70 dni, które podzielono losowo na 2 grupy doświadczalne (EI i EII) i grupę kontrolną C. Grupy E otrzymywały odpowiednio 50 i 75  $\mu$ g ZEA/kg mc, per os przez okres 42 dni; grupa C otrzymywała placebo. Na zakończenie doświadczenia zwierzęta poddano ovariectomii.

**Wyniki i omówienie:** U obu grup badanych zwierząt stwierdzono, że bardzo trudno jest określić formę śmierci komórek poddanych działaniu ZEA, nie jest ona jednoznaczna. O apoptozie lub/czy nekrozie komórki decyduje poziom jej zasobów energetycznych, co związane jest z aktywnością metaboliczną mitochondriów. W wyniku uszkodzenia błon komórkowych przez ZEA doszło prawdopodobnie do obniżenia błonowego potencjału mitochondrialnego. To z kolei prowadzi do spadku poziomu ATP, który odgrywa istotną rolę w procesie śmierci komórki. Z drugiej strony, decydują rodzaj i dawka czynnika indukującego cytotoksyczność, czas jego ekspozycji na komórki oraz rodzaj komórek poddanych działaniu tego czynnika. W konsekwencji apoptozę i/lub nekrozę może indukować ten sam czynnik jako efekt hormezy, w przypadku substancji niepożądaną jaką jest ZEA. Śmierć badanych komórek miała miejsce w wyniku zbyt dużego nagromadzenia Ca<sup>2+</sup> w mitochondriach, ich dysfunkcji i w efekcie, spadku czy nawet utraty aktywności metabolicznej mitochondriów w oocytach, komórkach pęcherzykowych i w komórkach wnątkowych jajników eksperymentalnych suczek i loszek. Równocześnie niskie dawki ZEA powodują spadek udziału, jedynie obecnych, receptorów ER $\beta$  w jajnikach, co w konsekwencji powodowało uruchomienie mechanizmów modyfikacji epigenetycznej wyrażającej się nie tyle „cofnięciem”, ile wyhamowaniem procesów rozwoju jajników. Towarzyszył temu również wzrost koncentracji E<sub>2</sub> proporcjonalnie do stopnia intoksykacji, co jest wynikiem swoistej regulacji enzymatycznej wynikającej z obecności ZEA – jako konkurencyjnego substratu modulującego aktywność enzymów biorących udział w procesie biosyntezy estrogenów na poziomie prereceptorowym przy równoczesnej bardzo niskiej koncentracji  $\alpha$ -zearalenolu (jako wynik spowolnienia przebiegu procesu biotransformacji ZEA), do  $\alpha$ -zearalenolu. Zatem miał miejsce hyperestrogenizm oraz określając problem z punktu widzenia zjawiska hormezy, w grupie EII wyraźnie została przekroczona dawka progowa.

Badania wykonano w ramach projektu badawczego Nr N R12 0080 10/2010 oraz N N308 242635.





## JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA PASZ W POLSCE

### MICROBIOLOGICAL QUALITY OF FEED USED IN POLAND

Elżbieta Kukier, Magdalena Goldsztejn, Krzysztof Kwiatek, Tomasz Grenda

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: elawoj@piwet.pulawy.pl

Prawdopodobieństwo wystąpienia mikroorganizmów patogennych i ich toksyn rośnie wraz z całkowitą liczbą drobnoustrojów obecnych w paszy. Z kolei, obecność w paszy patogenów i ich toksyn stwarza ryzyko zachorowań zwierząt i zanieczyszczenia surowców oraz produktów żywnościowych pochodzenia zwierzęcego, co zagraża zdrowiu człowieka. Ponadto, stała ekspozycja zwierząt na drobnoustroje licznie występujące w otoczeniu zwierząt i w paszy powoduje produkcję cytokin prozapalnych, aktywację odpowiedzi ostrej fazy, zużywanie składników odżywczych na procesy anaboliczne i stymulację produkcji leptyny, co prowadzi do obniżenia produktywności. Zanieczyszczenie pasz przez toksynotwórcze grzyby i mikotoksyny jest szczególnie niebezpieczne biorąc pod uwagę, że mikotoksyny wykazują właściwości karcinogenne, mutagenne, teratogenne i estrogenne. U zwierząt powodują także zmniejszenie wykorzystania paszy, pogorszenie stanu zdrowia oraz immunosupresję. Z kolei, obniżenie odporności organizmu sprzyja występowaniu zachorowań zwierząt na tle mikroorganizmów oportunistycznych (*C. perfringens*, *E. coli*).

**Cel badań:** Ocena zanieczyszczenia pasz stosowanych w Polsce przez bakterie tlenowe mezofilne i grzyby.

**Materiał i metody:** Materiałem do badań były próbki pasz pobierane podczas urzędowej kontroli IW i kontroli prywatnej. Badania pasz były wykonywane we wszystkich krajowych weterynaryjnych laboratoriach diagnostycznych działających w systemie laboratoriów urzędowych. Do badań zastosowano procedury badawcze zawarte w PN-EN ISO 6579:2003, PN-EN ISO 4833:2004, PN-ISO 7698:2004, PN-ISO 21528-2:2005, PN-ISO 21527-2:2009, PN-R-64791:1994.

**Wyniki i omówienie:** Pałeczki z rodzaju *Salmonella* były stwierdzane w 2,2% pasz dla gryzoni i 1,4% pasz dla ryb. Poniżej 1% próbek dodatnich wykazywano wśród pasz dla drobiu (0,98%), pasz dla świń (0,79%) i pasz dla bydła (0,43%). Nie jest znane przeznaczenie gatunkowe 2,08% dodatnich mieszanek paszowych. Wśród badanych karm dla zwierząt towarzyszących stwierdzono 1,06% próbek dodatnich. Niemal 90% badanych pasz zawierało mniej niż  $10^2$  jtk/g bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Było jednak kilka próbek pasz zanieczyszczonych przez te bakterie na poziomie od  $10^{10}$  do  $10^{11}$  jtk/g. Porównując poziom kontaminacji pasz przez bakterie tlenowe mezofilne w latach 2003–2006 z okresem 2007–2010 widoczne jest obniżenie poziomu zanieczyszczenia o jeden rząd wielkości. W latach 2003–2006 procent próbek o poziomie kontaminacji  $10^6$  jtk/g wahał się od 1,8 do 16,7%, a w latach 2007–2010 jedynie od 0,2 do 6,2%. Analizowane wyniki badań wskazały także, że w latach 2003–2006 najwyższy poziom zanieczyszczenia bakteryjnego wykazywały pasze dla drobiu, a w latach 2007–2010 były to pasze dla świń. Poziom kontaminacji pasz przez grzyby, podobnie jak kontaminacji przez bakterie, był niższy w latach 2007–2010 niż w latach 2003–2006. W latach 2003–2006 procent próbek o poziomie kontaminacji  $10^5$  jtk/g wahał się od 0,7 do 6%, a w latach 2007–2010 od 0 do 0,9%. Przekroczenie niniejszego zakresu było obserwowane w przypadku nielicznych próbek badanych w 2007, 2008 i 2010 r., na co bez wątplenia miała wpływ roczna suma opadów deszczu w tych latach w Polsce. W latach 2003–2006 poziom kontaminacji pasz przez grzyby nie przekroczył  $10^5$  jtk/g w przypadku 92% badanych próbek. Wartość ta w latach 2007–2010 wynosiła około 96%. Biorąc pod uwagę, że pasze mogą być rezerwuarem lub wektorem mikroorganizmów saprofitycznych i patogennych, w tym także czynników zoonotycznych, ważna jest troska o jak najlepszą ich jakość mikrobiologiczną ze strony zarówno przemysłowych producentów mieszanek i materiałów paszowych, jak i rolników. Bardzo istotnym czynnikiem zachęcającym hodowcę zwierząt do wyboru danej paszy wśród wielu produktów na rynku, jest maksymalna liczba bakterii w gramie paszy deklarowana przez producenta. Przeprowadzona ocena jakości mikrobiologicznej pasz stosowanych w Polsce w latach 2003–2010 wskazuje, że w paszach stwierdza się nie więcej niż  $10^6$  jtk/g bakterii tlenowych mezofilnych oraz nie więcej niż  $10^5$  jtk/g grzybów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Colditz I.G., 2002. Effects of the immune system on metabolism: implications for production and disease resistance in livestock. *Livest. Prod. Sci.*, 3, 257–268.
- [2] Fink-Gremmels J., 1999. Mycotoxins: Their implications for human and animal health. *Vet. Quart.*, 21, 115–120.



## WPŁYW TOKSYNY T-2 NA ZMIANY ODSETKA SUBPOPULACJI LIMFOCYTÓW CD4+, CD8+ I CD21+ ORAZ EKSPRESJĘ WYBRANYCH MRNA CYTOKIN KĘPEK PEYERA JELITA BIODROWEGO ŚWINI

### EFFECT OF T-2 TOXIN TO CHANGES IN THE PERCENTAGE OF LYMPHOCYTES CD4+, CD8+ AND CD21+ AND SELECTED CYTOKINE MRNA EXPRESSION OF PIG ILEUM PEYER'S PATCHES

Kazimierz Obremski<sup>1</sup>, Piotr Podlasz<sup>2</sup>, Magdalena Żmigrodzka<sup>4</sup>, Anna Winnicka<sup>4</sup>, Maciej Woźny<sup>3</sup>, Paweł Brzuzan<sup>3</sup>, Ewa Jakimiuk<sup>1</sup>, Magdalena Gajęcka<sup>1</sup>, Łukasz Zielonka<sup>1</sup>, Maciej Gajęcki<sup>1</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: kazimierz.obremski@uwm.edu.pl

<sup>2</sup>Katedra Anatomii Zwierząt, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, <sup>3</sup>Wydział Ochrony Środowiska i Rybactwa, Katedra Biotechnologii w Ochronie Środowiska, ul. Słoneczna 45g, 10-709 Olsztyn

<sup>4</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, Zakład Patofizjologii Zwierząt, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa

Toksyna T-2 jest mikotoksyną fuzaryjną, której negatywny wpływ dotyczy hamowania syntezy białek, następujący po zmniejszeniu syntezy DNA i RNA [1]. Wpływa na aktywnie dzielące się komórki śluzówki przewodu pokarmowego, limfoidalne i erytroidalne, obniża poziom przeciwciał, immunoglobulin i różnych cytokin. W UE brak ujednoliconych ustaleń prawnych dotyczących dopuszczalnego maksymalnego poziomu obecności T-2 w paszach. Kępki Peyera (KP) są ważną tkanką limfoidalną, zlokalizowaną wzdłuż biegu jelitowej absorpcji ksenobiotyków i głównym miejscem indukcji odpowiedzi immunologicznej, prowadzącej w rezultacie do uogólnionej odporności błon śluzowych.

**Cel badań:** Ocena podawania niskich dawek toksyny T-2 na zmiany odsetka subpopulacji limfocytów CD4+, CD8+ i CD21+ oraz analizę ekspresji mRNA IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 i IL-10 kępek Peyera jelita biodrowego świni.

**Materiał i metody:** Badania wykonano na 30 loszkach w wieku 2 miesięcy, podzielonych na dwie grupy (n=15), kontrolną i doświadczalną, które otrzymywały z paszą odpowiednio placebo i T-2 (SIGMA, 0,2 mg/kg paszy/dzień). Cytometryczne badanie odsetka subpopulacji CD4, CD8 i CD21 w 14., 28. i 42. dniu doświadczenia przeprowadzono na wyizolowanych z KP płytki chłonnej jelita biodrowego limfocytach przy użyciu monoklonalnych przeciwciał pierwotnych (VMRD) i wtórnych (Pharmingen), każdorazowo od 5 loszek z każdej grupy. Do analizy poziomu ekspresji mRNA cytokin reprezentatywne fragmenty KP utrwalano w roztworze RNeasy Lysis Buffer™ i przechowywano w -20°C. Startery reakcji Real-Time PCR i referencyjne mRNA dla gatunku *Sus scrofa* zaczerpnięto z dostępnej literatury. Analizę przeprowadzono w termocyklerze ABI 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems).

**Wyniki i omówienie:** Głównym zadaniem subpopulacji limfocytów T CD4+ jest wytwarzanie cytokin regulujących i koordynujących aktywność komórek w odpowiedzi immunologicznej i będących wizytówką komórek Th1 i Th2. Ocenę wytwarzania cytokin dla całej populacji limfocytów w KP określono na podstawie ekspresji ich mRNA. Zaburzenie równowagi czynnościowej bądź ilościowej między poszczególnymi profilami może stanowić jedną z cech determinujących określony stan chorobowy. Zaobserwowana podczas intoksykacji świń toksyną T-2 zmniejszająca się ekspresja mRNA IFN- $\gamma$  może w konsekwencji prowadzić do ograniczonego różnicowania komórek Th1, a tym samym do hamowania odpowiedzi komórkowej, ponadto do spadku prezentacji antygenów przez makrofagi czy zmniejszenia ich aktywności lizosomalnej. Zaobserwowany statystycznie istotny spadek odsetka limfocytów B CD21+ może być powodem zmniejszonej produkcji przeciwciał i prezentacji antygenów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Gutleb A., Morrison E., Albertina J., 2002. Cytotoxicity assays for mycotoxins produced by *Fusarium* strains: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 11, 309–320.



## MIKROBIOTA TREŚCI JELITA GRUBEGO ŚWIŃ PODDANYCH EKSPERYMENTALNEJ MIKOTOKSYKOZIE FUZARYJNEJ

### INTESTINAL MIKROBIOTA OF PIGS AFTER EXPERIMENTAL FUSARIUM MYCOTOXICOSIS

Małgorzata Piotrowska<sup>1</sup>, Katarzyna Śliżewska<sup>1</sup>, Zofia Żakowska<sup>1</sup>, Łukasz Zielonka<sup>2</sup>,  
Maciej Gajęcki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź, e-mail: malgorzata.piotrowska@p.lodz.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn

Prawidłowy skład mikroflory jelitowej, jak również stabilność składu ilościowego i jakościowego są ważnym czynnikiem wpływającym na zdrowie zwierząt. Układ mikroflory przewodu pokarmowego jest determinowany warunkami środowiskowymi, cechami osobniczymi oraz rodzajem i jakością paszy. Nieprawidłowości w procesie żywienia mogą powodować zmiany w ekosystemie jelitowym, prowadząc do nadmiernego rozwoju niekorzystnych grup mikroorganizmów (bakterie chorobotwórcze) i zbyt niskiej liczebności bakterii pożytecznych dla zdrowia, w tym bakterii fermentacji mlekowej, co w efekcie skutkuje objawami chorobowymi i stratami w hodowli.

**Cel badań:** Wykazanie, jaki wpływ na mikrobiotę jelita grubego ma ekspozycja na mikotoksyny fuzaryjne, zearalenon ZEA i deoksyniwalenol DON, podawane pojedynczo i w mieszaninie.

**Materiał i metody:** Doświadczenie *in vivo* prowadzono przez 42 dni na 75 loszkach (masa ciała ok. 20 kg), podzielonych losowo na 4 grupy badawcze, którym podawano *per os*: ZEA, DON, ZEA+DON oraz *placebo*. Loszki poddawano eutanazji w odstępach tygodniowych, w każdym terminie po 3 sztuki. Materiał do badań mikrobiologicznych stanowiły próbki treści okrężnicy wstępującej i zstępującej.

Analizę mikrobiologiczną prowadzono metodą hodowlaną z zastosowaniem pożywek selektywnych. Oznaczano liczbę następujących grup drobnoustrojów: bakterie mezofilne tlenowe, drożdże i pleśnie, bakterie beztlenowe redukujące siarczynę *Clostridium perfringens*, streptokoki fekalne, bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* β-glukuronidazododatnie, bakterie fermentacji mlekowej. Wyniki podawano jako jtk/g analizowanego materiału. W każdym terminie badania i dla każdej grupy badawczej analizę prowadzono w trzech powtórzeniach, wykorzystując test Grubbsa odrzucono wyniki wątpliwe. Określano też obecność bakterii *Salmonella* w 1 g treści jelita. Prowadzono identyfikację dominujących bakterii z grupy bakterii mezofilnych tlenowych, standardowymi metodami z wykorzystaniem testów biochemicznych API firmy BioMerieux.

**Wyniki:** Z analizy porównawczej wyników badań mikrobiologicznych grupy kontrolnej i grup poddanych ekspozycji na mikotoksyny wynika hamujące działanie tych związków na liczebność określonych grup mikroorganizmów.

Ogólna liczba bakterii została obniżona w największym stopniu pod wpływem działania ZEA, podawanego pojedynczo jak i w mieszaninie z DON. W nieco mniejszym stopniu obserwowano obniżenie liczby *Clostridium perfringens*, *E. coli* oraz bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Natomiast liczba drożdży, pleśni, streptokoków fekalnych oraz bakterii fermentacji mlekowej nie uległa znaczącym zmianom w trakcie trwania doświadczenia. W okrężnicy zstępującej obserwowano podobną tendencję, ale nie tak wyraźną jak w okrężnicy wstępującej. Najbardziej opornymi na działanie mikotoksyn okazały się bakterie fermentacji mlekowej, których liczba nie uległa zmianie w trakcie trwania eksperymentu. W żadnej z analizowanych próbek nie wykazano obecności bakterii z rodzaju *Salmonella*. Wśród bakterii mezofilnych tlenowych dominowały bakterie Gram-ujemne oksydazoujemne, należące do rodziny *Enterobacteriaceae*, a także Gram-dodatnie ziarniaki. Wśród pleśni dominował gatunek *Geotrichum candidum*, ponadto rodzaj *Mucor* i *Penicillium*.

Na podstawie analizy wyników stwierdzono, że ZEA jest toksyną silniej niż DON oddziaływającą negatywnie na mikrobiotę przewodu pokarmowego świń, zaś działanie to jest wzmocnione pod wpływem mieszaniny toksyn (ZEA+DON).



## BADANIA KONTROLNE SUBSTANCJI CZYNNYCH I HOMOGENICZNOŚCI PASZ LECZNICZYCH W POLSCE W LATACH 2006–2011

### OFFICIAL CONTROL OF ACTIVE SUBSTANCES AND HOMOGENEITY OF MEDICATED FEED IN POLAND IN 2006–2011

Monika Przeniosło-Siwczyńska, Maja Chyłek-Purchała, Beata Kozak, Krzysztof Kwiatek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Pasz,  
Al. Partyzantów 57, 24 -100 Puławy, e-mail: monip@piwet.pulawy.pl

Pasze lecznicze są specyficznym rodzajem paszy stosowanej u zwierząt gospodarskich w leczeniu chorób o etiologii bakteryjnej oraz metafilaktycznie (metafilaktyka, strategiczne stosowanie chemioterapeutyków), czyli w celu przeciwdziałania skutkom zakażeń w okresie, kiedy straty związane z działaniem czynnika patogennego jeszcze nie wystąpiły. Premiks leczniczy, na bazie którego wytworzona jest pasza lecznicza, jest specyficzną dla farmakoterapii weterynaryjnej formą leku przeznaczonego dla zwierząt. Ustawa o paszach nakazuje, aby wytwarzanie pasz leczniczych prowadzono w taki sposób, aby było możliwe zachowanie homogeniczności i utrzymanie stałej zawartości substancji czynnej w 1 g paszy leczniczej. Kontrola jakości procesu wytwarzania pasz leczniczych ma na celu określenie dokładnej ilości substancji czynnej dodanej do paszy oraz jej homogeniczności. Mając to na uwadze, podjęto badania, których celem było oznaczenie zawartości substancji czynnych i homogeniczności pasz leczniczych produkowanych w Polsce w latach 2006–2011.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły pasze lecznicze, produkty pośrednie, premiksy lecznicze i mieszanki czyszczące zbadane w latach 2006–2011. Ogółem zbadano 2214 próbek, w tym 1856 próbek pasz leczniczych, 137 próbek premiksów leczniczych, 6 próbek produktów pośrednich i 215 mieszanek czyszczących. Prowadzone badania pasz leczniczych w ramach urzędowej kontroli obejmowały badanie następujących substancji czynnych: amoksycylina, chlorotetracyklina, doksycyklina, linkomycyna, sulfaguaniidyna, tiamulina i tylozyna. Badania przeprowadzono, stosując metody mikrobiologiczne, dyfuzyjne oparte na dyfuzji antybiotyku w podłożu agarowym zaszczerpionym odpowiednim szczepem testowym, wrażliwym na badaną substancję. Analiza polegała na porównaniu stopnia dyfuzji roztworu wzorcowego antybiotyku z dyfuzją ekstraktu z badanej próbki. Przyjmuje się, że średnica stref zahamowania wzrostu szczepu testowego jest wprost proporcjonalna do logarytmu stężenia badanego antybiotyku. Natomiast do oznaczania sulfaguaniidyny w paszach leczniczych zastosowano metodę opartą na technice chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas (LC-MS). Badania pasz leczniczych z sulfaguaniidyną prowadzone są od 2010 r. Badania kontrolne pasz leczniczych polegały albo na oznaczeniu zawartości substancji czynnej w wyprodukowanej paszy leczniczej (czy jest zgodna z deklarowaną), lub na badaniu homogeniczności paszy leczniczej (n=5). Badanie polega na określeniu stopnia wymieszania premiksu leczniczego, który powinien tworzyć jednolitą i stałą mieszaninę z paszą leczniczą. Kryterium oceny homogeniczności paszy jest wartość współczynnika zmienności (CV), którego wartość  $\leq 15\%$  świadczy o dobrym wymieszaniu substancji czynnej z paszą.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że we wszystkich badanych premiksach leczniczych oraz produktach pośrednich zawartość substancji czynnej była zgodna z deklarowaną. Spośród 1856 próbek pasz leczniczych 165 (8,9%) nie spełniało wymagań co do zawartości substancji czynnej i/lub homogeniczności. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że zbadane podczas urzędowej kontroli pasze lecznicze w znacznej większości zawierały substancje czynne w ilości zgodnej z deklarowaną przez producenta i były homogeniczne, na co wskazywały wartości współczynnika zmienności CV wynoszące  $\leq 15\%$ . Oznacza to, że w badanych paszach leczniczych lek był dobrze wymieszany z pozostałymi składnikami. Spośród 215 próbek mieszanek czyszczących w 76 (35,3%) stwierdzono obecność pozostałości substancji czynnej. Wykazanie próbek dodatnich wśród mieszanek czyszczących świadczy o skuteczności procesu czyszczenia linii technologicznej po zakończeniu produkcji paszy leczniczej.





## PASZA – ISTOTNY ELEMENT DOŚWIADCZENIA NAD ZWIĄZKAMI ENDOKRYNNIE CZYNNYMI

### FEED – AN IMPORTANT ELEMENT OF STUDY ON ENDOCRINE DISRUPTERS

Lidia Radko, Maria Minta, Sylwia Stypuła-Trębas, Barbara Woźniak, Jan Żmudzki

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Farmakologii i Toksykologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: lidia.radko@piwet.pulawy.pl

Żywienie zwierząt doświadczalnych stanowi ważny czynnik wpływający na uzyskiwane wyniki badań. Szczególną uwagę zwracają związki bioaktywne zawarte w paszy, które mogą zaburzać równowagę hormonalną organizmu.

**Cel badań:** Ocena wpływu fitoestrogenów w diecie zwierząt doświadczalnych na wyniki testu wzrostu macicy [1] i testu Hershbergera [2].

**Materiał i metody:** Doświadczenia wykonano na niedojrzałych płciowo samicach i samcach chomika złocistego (*Mesocricetus auratus*) otrzymujących paszę Murigran, która jak wykazały badania, zawierała genisteinę i daidzeinę (odpowiednio 765 i 132 µg/g) lub Altromin 7010 (pozbawioną tych związków). Zwierzęta przebywały w pomieszczeniach o ustalonych warunkach środowiskowych. Wodę i paszę podawano *ad libitum*. Test wzrostu macicy wykonywano na 18-dniowych samiczkach, którym przez trzy kolejne dni podawano EE<sub>2</sub> podskórnie (*s.c.*) w dawkach 0,1–100 µg/kg m.c. Po 24 godzinach od ostatniego podania samice usypiano. Oceniano wzrost macicy „mokrej” bezpośrednio po wypreparowaniu i „suchej” po 24-godzinnym suszeniu. Test Hershbergera wykonywano na 25-dniowych samcach, którym przez 10 dni podawano TP *s.c.* w dawkach 0,1–1,6 mg/kg m.c./d. Po 24 godzinach od ostatniego podania samce usypiano. Oceniano masę prostaty (VP), pęcherzyków nasiennych (SVCG), gruczołów opuszkowo-cewkowych (CG), mięśnia opuszkowo-gąbczastego (LABC) i żołądździ prącia (GP). Samice i samce kontrolne otrzymywały *s.c.* olej kukurydziany w objętości 2 ml/kg m.c.

**Wyniki i omówienie:** Masa macicy kontrolnej samic żywionych paszą Murigran była trzykrotnie wyższa od masy macicy samic żywionych paszą Altromin. U samic karmionych paszą Murigran masa macicy kontrolnej i po ekspozycji dawkami 1, 3 i 10 µg/kg m.c./d EE<sub>2</sub> były podobne. Statystycznie istotny wzrost ( $p \leq 0,05$ ) zaobserwowano po podawaniu 100 µg/kg m.c. EE<sub>2</sub>. W grupie zwierząt żywionych paszą Altromin stwierdzono dawko-zależny wzrost masy macicy („mokrej” i „suchej”) po podaniu EE<sub>2</sub>, a istotny ( $p \leq 0,05$ ) wzrost zaobserwowano począwszy od dawki 0,6 µg/kg m.c./d.

W teście Hershbergera nie wykazano istotnych różnic pomiędzy masą narządów płciowych samców kontrolnych żywionych paszą Murigran i Altromin. Jednakże zaobserwowano istotne różnice we wrażliwości na działanie testosteronu. W grupie samców żywionych paszą Murigran istotny ( $p \leq 0,01$ ) wzrost masy VP, SVCG, LABC i CG stwierdzono począwszy od dawki 0,2 mg/kg m.c./d TP. W grupie samców żywionych paszą Altromin istotny ( $p \leq 0,001$ ) wzrost masy VP, SVCG, LABC i GP zaobserwowano począwszy od dawki 0,8 mg/kg m.c./d TP.

Uzyskane wyniki wykazały, że pasza zawierająca związki bioaktywne (Murigran) wpływa na wrażliwość narządów płciowych na referencyjne estrogeny i androgeny, a tym samym nie może być używana w przypadku doświadczeń nad wykrywaniem i oceną związków endokrynnie czynnych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] OECD TG no 440 2007 Uterotrophic bioassay in rodents: A short-term screening assay for oestrogenic properties.
- [2] OECD TG no 441 2009 Hershberger bioassay in rats, a short-term screening assay for (anti) androgenic properties.

Badania realizowane w ramach projektu badawczego MNiSW N N308 26723.





## URZĘDOWA KONTROLA I STOSOWANIE PASZ Z ROŚLIN GENETYCZNIE ZMODYFIKOWANYCH W POLSCE

### OFFICIAL CONTROL AND USING OF FEED PRODUCED FROM GENETICALLY MODIFIED CROPS IN POLAND

Zbigniew Sieradzki, Małgorzata Mazur, Krzysztof Kwiatek

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Higieny Pasz, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: zbigniew.sieradzki@piwet.pulawy.pl*

Problematyka produkcji i stosowania roślin genetycznie zmodyfikowanych jest obecnie jedną z częściej poruszanych w Polsce. Zapisy Ustawy o paszach wymieniają Inspekcję Weterynaryjną jako organ, który sprawuje nadzór nad wytwarzaniem, obrotem i stosowaniem organizmów genetycznie zmodyfikowanych (GMO) przeznaczonych do użytku paszowego i pasz genetycznie zmodyfikowanych oraz nad transgranicznym przemieszczaniem organizmów genetycznie zmodyfikowanych przeznaczonych do użytku paszowego.

**Cel pracy:** Opracowanie metod pozwalających na wykrywanie i oznaczanie GMO w próbkach pasz i materiałów paszowych pobieranych do badań urzędowych zgodnie z Planem urzędowej Kontroli Pasz.

**Materiał i metody:** Metody detekcji i oznaczania zawartości roślin GMO opierają się na technikach PCR i real-time PCR. Do badań zastosowano metody przesiewowej identyfikacji GMO za pomocą identyfikacji promotora CaMV 35S i terminatora NOS, metody identyfikacji gatunkowej roślin oraz metody specyficzne dla poszczególnych rodzajów modyfikacji lub odmian GMO polegające na wykrywaniu genów użytych do transformacji roślin albo identyfikacji miejsca włączenia kaset transformacyjnej do genomu biorcy. Schemat pobierania próbek opisany jest w Planie Urzędowej Kontroli Pasz, który jest corocznie opracowywany dla wszystkich badań urzędowych pasz.

**Wyniki i omówienie:** Z dotychczas wykonanych analiz prawie 700 próbek pasz wynika, że zgodnie z istniejącą sytuacją na rynku pasz GMO najczęściej stwierdza się obecność soi GMO (około 90% próbek zawierających w składzie soję), rzadziej odmiany kukurydzy genetycznie zmodyfikowanej (około 10% próbek zawierających w składzie kukurydzę), a przypadki obecności rzepaku odmian GMO są sporadyczne (około 1% próbek). Nie stwierdza się prawie w ogóle przypadków nieautoryzowanego wprowadzenia na rynek polski niedozwolonych do stosowania na terenie UE odmian GMO. Analizując rynek pasz GMO w Polsce, stwierdza się corocznie, że głównym elementem pasz GMO jest soja GTS 40-3-2 (Roundup Ready™) stanowiąca główne źródło białka paszowego w Polsce i UE. Pochodzi ona w przeważającej części z importu do Europy śruty sojowej z krajów Ameryki Południowej (Argentyny i Brazylii). Kukurydza genetycznie zmodyfikowana stosowana jest znacznie rzadziej, stwierdzone próbki pozytywne w znacznej części dotyczą odmian dopuszczonych do stosowania na terenie UE i Polski takich jak MON810, Bt11, NK603, MON863, TC1507. Taki obraz stosowania GMO w Polsce ma swoje uzasadnienie w areale upraw poszczególnych gatunków roślin GMO na świecie i w Polsce (MON810).

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kwiatek K., Sieradzki Z., Mazur M., 2007. Prevalence of genetically modified crops in animal feeding-stuffs in Poland – Three year studies. Bull. Vet. Inst. Puławy, (51) 4, 609–613.



## BIOSYNTETA, OCZYSZCZANIE I ANALITYKA ZEARELENONU W DOŚWIADCZENIACH BIOLOGICZNYCH

## BIOSYNTHESIS, PURIFICATION AND ANALYSIS OF ZEARELENONE IN BIOLOGICAL EXPERIMENTS

Agnieszka Waśkiewicz<sup>1</sup>, Marian Kostecki<sup>1</sup>, Piotr Goliński<sup>1</sup>, Kazimierz Obremski<sup>2</sup>,  
Magdalena Gajęcka<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Technologii Drewna, Katedra Chemii,  
ul. Wojska Polskiego 75, 60-675 Poznań, e-mail: piotrg@up.poznan.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Prewencji  
Weterynaryjnej i Higieny Pasz, ul. Oczapowskiego 13, 10-710 Olsztyn, e-mail: gajECKI@uwm.edu.pl

Mikotoksyny stanowią grupę kilkuset toksycznych dla ludzi i zwierząt metabolitów wtórnych tworzonych przez grzyby mikroskopowe, w tym również patogeniczne. Warunkami sprzyjającymi do tworzenia tych związków – obok fizycznej obecności grzyba toksynotwórczego – są podwyższona wilgotność i temperatura. Za jedną z przyczyn powstawania mikotoksyn uznaje się reakcje biosyntezy, w których niskocząsteczkowe produkty metabolizmu pierwotnego wykorzystywane są celem nieustannego utrzymania jego przebiegu.

**Materiał i metody:** W realizowanych badaniach tworzono zearalenon (ZEA), drogą jego biosyntezy na ziarnie ryżu inokulowanym zarówno *F. graminearum* jak i *F. culmorum* (niezależnie). Zaprezentowany zostanie przykładowy szlak metaboliczny tworzenia mikotoksyn. Po czterech tygodniach hodowli ekstrahowano metabolit, oczyszczano go poprzez techniki ekstrakcji podziałowej, rozdziału mieszaniny związków metodami chromatografii kolumnowej i rekrytalizacji.

ZEA zarówno w kulturach (biosynteza), jak i w materiale biologicznym oznaczano wg wcześniej opisanej techniki [1], którą w uproszczeniu można następująco podsumować: w przypadku każdej z próbek po uprzedniej homogenizacji i oczyszczaniu, odparowaną do sucha pozostałość rozpuszczano w 200 ml mieszaniny acetonitryl: metanol: woda (70:20:10, v/v/v) i dozowano na kolumnę chromatograficzną. Zearalenon oznaczano metodą wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC) z zastosowaniem zestawu detektorów Multi Fluorescence Detector i Photodiode Array Detector oraz kolumny C<sub>18</sub> Nova Pak 3,9 × 150 mm.

**Wyniki i omówienie:** Opracowano warunki i wydajność tworzenia ZEA oraz sposobu jego oczyszczania do stopnia czystości krystalicznego standardu. Czystość związku określano poprzez kontrolę jego punktu topnienia, wysokosprawną chromatografię cieczową (profil elucji z czasami retencji), spektroskopową analizę instrumentalną, porównanie uzyskanych wyników z komputerową bazą danych. Średnia wydajność biosyntezy zearalenonu dla wykorzystywanych izolatów toksynotwórczych wynosiła 120 mg/kg, natomiast stężenie toksyny w paszach kształtowało się w zakresie 15,58–195,30 ng/g.

### Piśmiennictwo:

- [1] Goliński P., Waśkiewicz A., Wiśniewska H., Kiecana I., Mielniczuk E., Gromadzka K., Kostecki M., Bocianowski J., Rymaniak E., 2010. Reaction of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to infection with *Fusarium* spp.: mycotoxin contamination in grain and chaff. *Food Add Contam* 27 (6), 1015–1024.
- [2] Goliński P., Waśkiewicz A., Gromadzka K., 2011. Zearalenone and its derivatives: known toxins in new aspects – rozdział w książce: wydawnictwo Springer, Mahendra Rai, Ajit Varma (Eds) “Mycotoxins in food, feed and bioweapons”, 113–129.



## CZY MYKOTOKSYNY WYWOŁUJĄ ZMIANY W UKŁADZIE POKARMOWYM ŚWINI?

### DO MYCOTOXINS EVOKE CHANGES IN THE ALIMENTARY TRACT OF THE PIG?

Krzysztof Wąsowicz, Piotr Podlasz, Małgorzata Chmielewska, Katarzyna Łosiewicz

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Anatomii Zwierząt, Laboratorium Genomiki i Transkryptomiki, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: wasowicz@uwm.edu.pl*

Badania dotyczące wpływu mykotoksyn na organizm zwierząt monogastrycznych najczęściej były prowadzone w układach „izolowanych”, gdzie badano wpływ jednej tylko toksyny. Jednakże, najczęściej pasze skażone są różnymi drobnoustrojami, w tym grzybami produkującymi różne rodzaje mykotoksyn.

W cyklu badań postanowiono zbadać wpływ dwóch mykotoksyn – zearalenonu (ZEA) i deoksynivalenolu (DON), działających zarówno osobno, jak i w kombinacji, na kilka aspektów działania układu jelitowego świni jako najbardziej narażonego na takie zatrucia zwierzęcia monogastrycznego. W niniejszej pracy przedstawiono wpływ wspomnianych mykotoksyn na ekspresję neuronalnej (nNOS) i indukowanej (iNOS) syntazy tlenu azotu w okrężnicy świni domowej.

**Materiał i metody:** Zwierzęta podzielono na kilka grup doświadczalnych: kontrolne (C), żywione paszą z dodatkiem zearalenonu (Z), żywione paszą z dodatkiem deoksynivalenolu (D) oraz żywione paszą z dodatkiem obu tych toksyn (ZD). Podawanie toksyn kontynuowano u zwierząt doświadczalnych przez 1, 2 i 3 tygodnie. Po tym czasie zwierzęta w każdej kategorii były ubijane (n=4) i pobierano z nich różne tkanki, w tym fragmenty okrężnicy wstępującej. Fragmenty tkanek były konserwowane w RNALater do czasu izolacji całkowitego RNA zestawem Total RNA (A&A Biotechnology). Całkowity RNA był wykorzystany do syntezy cDNA. cDNA był wykorzystany do określenia ekspresji nNOS i iNOS na poziomie mRNA metodą PCR w czasie rzeczywistym z zastosowaniem SYBR Green. Analizę wykonano w aparacie ABI 7500 Fast (Applied Biosystems) z użyciem mastermiksów firmy Roche. Wyniki były normalizowane względem ekspresji świńskiej GAPDH jako genu referencyjnego.

**Wyniki i omówienie:** Wyniki wskazują wyraźnie, że zarówno ZEA, jak i DON wpływają silnie na ekspresję nNOS i iNOS w tkankach okrężnicy wstępującej. W wypadku nNOS najsilniejszy wpływ stwierdzono w przypadku DON, gdzie po 1 i 2 tygodniach podawania toksyny stwierdzono kilkudziesięciokrotny wzrost ekspresji tego enzymu. Po 3 tygodniach natomiast wykazano kilkudziesięciokrotny wzrost ekspresji nNOS pod wpływem skojarzonego podawania obu toksyn jednocześnie. W wypadku iNOS stwierdzono najsilniejszy wpływ ZEA, jednak wzrost ten nie był tak dramatyczny jak w przypadku nNOS, gdyż był najwyżej kilkukrotny w przypadku zwierząt, którym podawano ZEA przez 3 tygodnie.

Przedstawione wyniki jasno wskazują na wpływ wspomnianych toksyn na ekspresję dwóch form syntezy tlenu azotu w okrężnicy świni. Dalsze badania nad wpływem ZEA i DON na inne aspekty funkcjonowania okrężnicy świni są w toku.



## WPŁYW EKSPERYMETALNEGO, DŁUGOTRWAŁEGO PODAWANIA ZEARALENONU W NISKICH DAWKACH NA DYNAMIKĘ ZMIAN POZIOMU WYBRANYCH HORMONÓW STEROIDOWYCH U NIEDOJRZAŁYCH PŁCIOWO LOSZEK

### THE EFFECT OF EXPERIMENTAL, LONG-TERM EXPOSURE TO LOW-DOSE ZEARALENONE MYCOTOXICOSIS ON THE DYNAMICS OF CHANGES IN THE LEVELS OF SELECTED STEROID HORMONES IN SEXUALLY IMMATURE GILTS

Łukasz Zielonka, Magdalena Gajęcka, Wojciech Zwierzchowski, Kazimierz Obremski, Maciej Gajęcki

*Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 13/01, 10-718 Olsztyn, e-mail: lukasz.zielonka@uwm.edu.pl*

**Cel badań:** Określenie wpływu długotrwałego (48-dniowego), doustnego podawania zearalenonu (ZEA) w niskich dawkach na dynamikę zmian poziomu wybranych hormonów steroidowych u niedojrzałych płciowo loszek.

**Materiał i metody:** Doświadczenie zostało przeprowadzone na 12 klinicznie zdrowych loszkach o początkowej masie ciała  $\pm$  40 kg w wieku 2 miesięcy, o znanym statusie immunologicznym. Zwierzęta były utrzymywane w indywidualnych klatkach, ze stałym dostępem do wody i karmione standardową paszą przebadaną na obecność mikotoksyn: aflatoksyny, ochratoksyny, ZEA,  $\alpha$ -zearalenolu i deoksyniwalenolu. Zwierzęta podzielono na 2 grupy doświadczalne i grupę kontrolną, liczące po 4 sztuki: grupa doświadczalna 1 otrzymywała 20  $\mu$ g ZEA/kg mc, *per os* przez okres 48 dni; grupa doświadczalna 2 otrzymywała 40  $\mu$ g ZEA/kg mc, *per os* przez okres 48 dni; grupa kontrolna otrzymywała placebo *per os* przez okres 48 dni. Naważki mikotoksyny podawano w żelatynowych kapsułkach codziennie przed porannym odpasem *per os*. Naważki ZEA rozpuszczano w objętości 300  $\mu$ l 96-procentowego alkoholu etylowego odpowiadające dawce 20 i 40  $\mu$ g ZEA/kg mc (50% i 100% NOAEL). Próbkę krwi do określenia stężenia hormonów sterydowych i hormonu luteinizującego (LH) pobierano co 48 godzin w godzinę po podaniu mikotoksyny przez cały okres doświadczenia. Pobraną krew przenoszono do schłodzonych probówek wirowniczych zawierających heparynę, jak również do probówek bez heparyny i wirowano przez 20 min przy 3000 obrotów/min w temp. 4°C. Uzyskane osocze po rozdozowaniu do plastikowych probówek o pojemności 3,0 ml przechowywano w temperaturze -18°C do czasu przeprowadzenia oznaczeń wybranych hormonów steroidowych. Badania osocza krwi, określające stężenie, estronu i estradiolu 17 $\beta$ , wykonano metodą radioimmunologiczną (RIA), w dwóch powtórzeniach. Radioaktywność próbek zawierających tryt zliczano w ciągu 1 min w liczniku promieniowania  $\gamma$  firmy Beckman (wydajność zliczania 75%). Określanie stężenia LH wykonano metodą RIA, opisaną przez Zięcika i wsp. [1978], zaś testosteronu przez Kotwicę i wsp. [1982]. Wyniki doświadczenia przedstawiono za pomocą wartości średniej i odchylenia standardowego.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż obie niskie dawki ZEA stały się przyczyną spadku koncentracji hormonów, steroidowych po 48 dniach intoksykacji, a wyższa dawka ZEA spowodowała dodatkowo istotne wyhamowanie sekrecji LH w 30. i 40. dniu eksperymentu, prawdopodobnie jako wynik ujemnej stymulacji zwrotnej.



## WYKRYWANIE OBECNOŚCI PRZETWORZONEGO BIAŁKA Z MAŁYCH PRZEŻUWACZY W PASZACH Z ZASTOSOWANIEM TECHNIKI PCR

### DETECTION OF PROCESSED ANIMAL PROTEIN OF SMALL RUMINANTS BY USING PCR TECHNIQUE

Agata Gołębiowska, Ilona Paprocka, Anna Weiner, Krzysztof Kwiatek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Pasz,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: agata.golebiowska@piwet.pulawy.pl

Przetworzone białko pochodzenia zwierzęcego (PAP) uznawane jest za przyczynę wystąpienia gąbczastej encefalopatii bydła (BSE). Od 1988 r. w poszczególnych krajach członkowskich Unii Europejskiej wprowadzono ograniczenia prawne stosowania PAP w żywieniu zwierząt. Rozporządzenie (WE) Nr 1069/2009 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 21 października 2009 r., określające przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego, nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi i uchylające rozporządzenie (WE) nr 1774/2002, zakazuje kanibalizmu, tj. żywienia zwierząt PAP otrzymanego ze zwierząt tego samego gatunku. To kryterium narzuca konieczność opracowania metod analitycznych pozwalających na gatunkowe rozróżnianie mączek w paszy.

**Materiał i metody:** Badania wykonano, stosując MBM owczą, kozią, drobiową, wołową i wieprzową oraz mieszanki paszowe fortyfikowane mączkami. Z badanych próbek DNA zostało wyizolowane przy użyciu komercyjnego testu (Wizard Magnetic Purification DNA System for Food Promega). Badania wykonano przy zastosowaniu mieszanek paszowych fortyfikowanych MBM owczą, kozią na poziomach 5, 2, 1, 0,5, 0,2, 0,1, 0,05%. Do identyfikacji zastosowano startery, które przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka starterów użytych w testach PCR.

Nazwa startera	Gatunkowa specyficzność	Sekwencja (5'→3')	Produkt amplifikacji (pz')
Ov1F Ov1R	owca	5' GGCCAACCCGGAACCTCTAC 3' 5' TGCCGAATCCACCGATTATAA 3'	115
Cap1F Cap1R	koza	5' AGGAGTGCACCCAGGAAAGA 3' 5' AATACCGCGGCCGTTTAAC 3'	146

Test PCR wykonano w mieszaninie o objętości 45 µl, zawierającej: bufor enzymatyczny; mieszaninę dNTP; startery (10 µM); MgCl<sub>2</sub> (50 mM), polimerazę Taq DNA (1U/µl) oraz wodę. Do mieszaniny dodawano 5 µl mDNA. W procesie amplifikacji dla białka owczego zastosowano parametry: 94°C – 5 min, 30 cykli 94°C – 1 min, 58°C – 1 min, 72°C – 1,5 min, oraz denaturację końcową w temp. 72°C przez 5 min. Dla białka koziego zastosowano parametry amplifikacji: 94°C – 10 min, 30 cykli 94°C – 1 min, 59°C – 1 min, 72°C – 1 min oraz denaturację końcową w temp. 72°C przez 5 min. Uzyskane produkty amplifikacji poddano elektroforezie w 2% żelu agarozowym w buforze TBE, przy stałym napięciu 110 V.

**Wyniki:** Przy zastosowaniu opracowanej metody PCR osiągnięto wykrywalność dla DNA białka owczego i koziego na poziomie 0,1%. Dodatkową zaletą metody PCR jest możliwość uzyskiwania poprawnych wyników niezależnie od obecności składników o charakterystycznej strukturze morfologicznej. Analizując wyniki otrzymane za pomocą techniki PCR, można stwierdzić, że metody biologii molekularnej mogą już obecnie być wykorzystywane jako uzupełnienie metody mikroskopowej (referencyjnej).





## PRODUKTY UBOCZNE POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO ZNAKOWANE MARKEREM TRIHEPTANIANEM GLICEROLU – PODSUMOWANIE WYNIKÓW BADAŃ Z LAT 2008–2011

### ANIMAL BY-PRODUCTS MARKED WITH GLYCEROL TRIHEPTANOATE – SUMMARY OF THE RESULTS FROM YEARS 2008–2011

Aleksandra Grelik, Ewelina Kowalczyk, Zbigniew Osiński

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Pasz,  
Al. Partyzantów 57, 24 -100 Puławy, e-mail: aleksandra.grelik@piwet.pulawy.pl

Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego Nr 1432/2007 z dnia 5 grudnia 2007 r. wprowadziło obowiązek znakowania ubocznych produktów pochodzenia zwierzęcego kategorii 1. i 2. przy użyciu triheptanianu glicerolu (GTH) od dnia 1 lipca 2008 r. Obecnie szczegółowe zasady klasyfikowania i znakowania ubocznych, niejadalnych produktów pochodzenia zwierzęcego określa Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady Nr 1069/2009 z dnia 21 października 2009 r. oraz Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 142/2011 z dnia 25 lutego 2011 r. W świetle obowiązujących przepisów produkty przetworzone powinny być oznakowane trwale za pomocą triheptanianu glicerolu w taki sposób, aby GTH było dodawane w trakcie procesu termicznej obróbki po osiągnięciu temperatury co najmniej 80°C. Na podstawie badań określono, że zawartość triheptanianu glicerolu (GTH) powinna być wyrażona w odniesieniu do masy tłuszczu (w mg GTH/ kg tłuszczu), a minimalny poziom jaki należy osiągnąć w produktach przetworzonych to 250 mg GTH/ kg tłuszczu.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły mączki mięsno-kostne kategorii 1. i 2., tłuszcz utylizacyjny kategorii 1. i 2. oraz polepszacze gleby. W badaniach wykonanych w Zakładzie Higieny Pasz wykorzystano próby pochodzące z Kontroli Urzędowej, monitoringu w ramach Programu Wieloletniego oraz od zleceniodawców prywatnych. Łącznie w latach 2008–2011 przebadano 383 próbki. Metoda badania zawartości GTH oparta jest na technice chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną. Całość analizy można podzielić na etapy: przygotowanie próbki – przesianie przez sito próbek mączki lub polepszacza glebowego, rozpuszczenie próbek tłuszczowych; ekstrakcja – dotyczy próbek mączek i polepszaczy – wydzielenie frakcji tłuszczowej przy użyciu eteru naftowego; oczyszczanie – zastosowanie kolumnienek SPE z odpowiednim sorbentem; analiza chromatograficzna – wykreślenie krzywej kalibracyjnej i ilościowe oznaczenie markera w próbce.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki badań przedstawiono w tabelach.

Tabela 1. Liczba przebadanych próbek z uwzględnieniem rodzaju badanego materiału

	Mączka mięsno-kostna	Tłuszcz utylizacyjny	Polepszacz gleby	Ogółem
2008	8	3	1	12
2009	56	7	6	69
2010	119	49	10	178
2011	66	46	12	124
Ogółem	249	105	29	383

Tabela 2. Liczba próbek niespełniających wymagań z uwzględnieniem rodzaju badanego materiału oraz ich procent względem ogółu

	Mączka mięsno-kostna		Tłuszcz utylizacyjny		Polepszacz gleby		Ogółem	
	liczba próbek niezgodnych	%	liczba próbek niezgodnych	%	liczba próbek niezgodnych	%	liczba próbek niezgodnych	%
2008	5	41,67	2	16,67	1	8,33	8	66,67
2009	14	20,29	3	4,35	0	0	17	24,64
2010	30	16,85	13	7,3	0	0	43	24,15
2011	8	6,45	3	2,42	3	2,42	14	11,29
Ogółem	57	14,88	21	5,48	4	1,04	82	21,40

Z analizy danych przedstawionych w tabelach wynika, iż mimo faktu rosnącej liczby badanych próbek procent próbek niespełniających wymagań systematycznie ulega obniżeniu. Fakt ten może być spowodowany udoskonaleniem procesu znakowania przetworzonych produktów pochodzenia zwierzęcego.



## WPŁYW MIKOTOKSYN OBECNYCH W PASZY NA OBRAZ MIKROSKOPOWY DWUNASTNICY ŚWINI – BADANIA WSTĘPNE

### EFFECT OF MYCOTOXINS PRESENT IN FEED ON THE MICROSCOPIC STRUCTURE OF THE DUODENUM IN PIGS – PRELIMINARY STUDY

Bogdan Lewczuk<sup>1</sup>, Barbara Przybylska-Gornowicz<sup>1</sup>, Magdalena Prusik<sup>1</sup>, Natalia Ziółkowska<sup>1</sup>,  
Magdalena Gajęcka<sup>2</sup>, Maciej Gajęcki<sup>2</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Histologii i Embriologii, <sup>2</sup>Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, ul. Oczapowskiego 13, 10-713 Olsztyn, email: blewczuk@uwm.edu.pl

Zearalenon (ZEA) należy do grupy fitoestrogenów produkowanych przez grzyby pleśniowe z rodzaju *Fusarium*. Po dostaniu się do organizmu zwierząt i ludzi wywołuje on przede wszystkim zaburzenia w funkcjonowaniu układu rozrodczego. Niekorzystnie wpływa także na układ pokarmowy oraz centralny układ nerwowy. ZEA jest metabolizowany w śluzówce jelita cienkiego i w wątrobie, które jako pierwsze są narażone na jego toksyczność. Deoksyniwalenon (DON), zwany również womitoksyną – kolejny metabolit grzybów *Fusarium*, oddziałuje silnie toksycznie na układ pokarmowy. Powszechność występowania tych metabolitów w paszach i środkach spożywczych pochodzenia roślinnego sprawia, że mikotoksykozy stają się coraz większym problemem zdrowotnym zwierząt i ludzi.

**Cel pracy:** Określenie wpływu niskich dawek ZEA oraz DON, podawanych wraz z paszą, na obraz mikroskopowy dwunastnicy świni.

**Materiał i metody:** Badania wykonano na loszkach o początkowej masie około 20 kg, którym w ciągu 42 dni podawano *per os* mikotoksyny. Zwierzęta podzielono na 4 grupy: 1) grupa A – otrzymywała ZEA – 20 µg/kg m.c.; 2) grupa B – DON – 8 µg/kg m.c.; 3) grupa C – mieszaninę ZEA (20 µg/kg m.c.) + DON (8 µg/kg m.c.); 4) grupa D – była grupą kontrolną. Materiał do badań pobrano w 7., 21. i 42. dniu doświadczenia od 3 loszek z każdej grupy. Skrawki dwunastnicy bezpośrednio po pobraniu utrwalano w 4% paraformaldehydzie w buforze fosforanowym przez 48 godzin, odwadniano i zatapiano w parafinie. Sporządzano skrawki o grubości od 7 do 10 µm, barwiono HE i badano w MŚ.

**Wyniki i omówienie:** W początkowym odcinku dwunastnicy u loszek otrzymujących ZEA oraz mieszaninę ZEA+DON w paszy obserwowano: pogrubienie błony śluzowej i podśluzowej, wydłużenie kosmków, zmniejszenie liczby komórek kubkowych w nabłonku kosmków i krypt, wzrost ilości komórek odpornościowych w nabłonku kosmków (limfocyty) oraz w blaszce właściwej śluzówki (plazmocyty, limfocyty, eozynofile). Ponadto w 7. dniu eksperymentu stwierdzono przekrwienie błony śluzowej. U loszek otrzymujących DON w paszy pogrubienie śluzówki i podśluzówki obserwowano tylko w 7. dniu. Zaobserwowano także początkowo zmniejszenie (w 7. dniu eksperymentu), a potem (w 21. dniu eksperymentu) zwiększenie liczby komórek kubkowych w nabłonku kosmków i spadek liczby komórek kubkowych w nabłonku krypt. Liczba komórek odpornościowych kształtowała się identycznie jak u loszek otrzymujących ZEA. W środkowym odcinku dwunastnicy u loszek ze wszystkich grup doświadczalnych obserwowano zmniejszenie grubości błony śluzowej i podśluzowej oraz skrócenie kosmków, początkowo zmniejszenie (w 7. dniu doświadczenia), a potem zwiększenie (w 21. i 42. dniu) ilości komórek kubkowych w nabłonku kosmków i krypt oraz wzrost liczby komórek odpornościowych w nabłonku i blaszce właściwej błony śluzowej. We wszystkich przypadkach obserwowano dodatkowo zwiększenie liczby makrofagów z brązowym pigmentem w zrębie łącznotkankowym kosmków oraz komórek enteroendokrynowych w nabłonku krypt (szczególnie u loszek otrzymujących ZEA).

Przedstawione dane są wynikiem wstępnych analiz materiału doświadczalnego. Precyzyjne określenie wszystkich skutków oddziaływania badanych mikotoksyn na budowę histologiczną dwunastnicy będzie możliwe po wykonaniu pełnego zakresu planowanych badań. Jednakże już wstępne dane pozwalają na stwierdzenie, że niskie dawki mikotoksyn wpływają niekorzystnie na mikrostrukturę tego odcinka jelita cienkiego.

Badania wykonano w ramach projektu rozwojowego 12.0080.10.



## BADANIA WSTĘPNE NAD MYKOTOKSYKOZĄ ZEARALENONOWĄ DZIKÓW (*SUS SCROFA*)

## PRELIMINARY STUDIES ON ZEARALENON MYCOTOXICOSIS IN BOARS (*SUS SCROFA*)

Józef Nicpoń, Piotr Sławuta, Jakub Nicpoń, Roman Kołacz, Maciej Gajęcki

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail: piotr.slawuta@up.wroc.pl

Praktycznie u każdego osobnika odżywającego się produktami pochodzenia zbożowego może wystąpić mykotoksykoza, co wynika z powszechnej obecności zarodników grzybów pleśniowych i ich produktów przemiany materii, czyli mykotoksyn. Ocenia się, że około 20% zbiorów zbóż, uprawianych w krajach Unii Europejskiej i używanych do produkcji środków spożywczych oraz środków żywienia zwierząt, zawiera wykrywalne laboratoryjnie ilości mikotoksyn. Zearalenon jest specyficznym hormonem regulującym rozmnażanie płciowe grzybów z rodzaju *Fusarium*. Możliwość występowania zearalenonu w paszy podawanej dzikom jest duża, gdyż podstawową i często nie najlepszej jakości paszą, jaką stosuje się w dokarmianiu zwierząt łownych, zwłaszcza dzików, jest kukurydza. Kukurydza podawana jest jako ziarno na karmowisko, a także zjadana w formie kolb czy ziarna z roli po zbiorze. Pojedyncze kolby lub ziarno bardzo często pozostają na ściernisku do wiosny następnego roku i stanowią karmę chętnie zjadaną w okresie jesienno-zimowym.

**Cel pracy:** Określenie zawartości zearalenonu we krwi dzików żyjących w środowisku naturalnym.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 22 dzikach różnej płci, odłowionych ze środowiska naturalnego, które podzielono na dwie grupy: grupę I – kontrolną liczącą 14 osobników obu płci i grupę II – 8 osobników obu płci, której podawano ziarno kukurydzy porażone pleśnią. Od obu grup przed rozpoczęciem eksperymentu pobrano krew z żyły szyjnej zewnętrznej i wykonano badania morfologiczne wraz z rozmażem oraz oznaczono parametry biochemiczne krwi i stężenie podstawowych elektrolitów krwi. U wszystkich badanych zwierząt w laboratorium Katedry Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie oznaczono, w surowicy krwi, stężenie zearalenonu i jego metabolitów  $\alpha$  i  $\beta$ , stosując techniki separacji z użyciem kolumnienek powinowactwa immunologicznego (Zearala-Test™ Zearalenone Testing System, G1012< VICAM, Watertown, USA) z użyciem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) ze spektrometrią mas (MS).

**Wyniki i omówienie:** U 10 badanych osobników stwierdzono obecność zearalenonu w surowicy krwi, którego średnie stężenie wynosiło  $0,028 \pm 0,01$  ng/ml, u czterech dzików stwierdzono obecność metabolitu  $\alpha$  – wartość średnia  $0,189 \pm 0,03$  ng/ml, natomiast metabolit  $\beta$  stwierdzono tylko u jednego osobnika –  $0,206$  ng/ml. Z otrzymanych danych wynika, że spożywanie paszy zanieczyszczonej pleśniami nie wpływa bezpośrednio na wyniki badań morfologicznych krwi, aktywność enzymów wątrobowych – AspAt, ALAT, ALP i stężenie innych badanych parametrów biochemicznych – mocznika, kreatyniny, białka całkowitego, albumin i bilirubiny, stąd można przypuszczać, że spleśniała pasza rzadko wywołuje u dzików kliniczne postaci zatrucia.

### Piśmiennictwo:

- [1] Binder E.M., 2007. Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. Anim. Feed Sci. Tech. 133, 149–166.
- [2] Eppley R.M., Stoloff L., Trucksess M.W., Chung C.W., 1974. Survey of corn for *Fusarium* toxins. J. Assoc off Anal. Chem., 57, 632–635.
- [3] Gajęcki M., 2002. Zearalenone – undesirable substances in feed. Pol. J. Vet. Sci., 5, 117–22.
- [4] Hussein H.S., Brasel J.M., 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 167, 101–134.
- [5] Juskiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J., 1992. Occurrence of mycotoxins in animal feeds. J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol., 11, 211–215.
- [6] Obremski K., Zalewski K., Gajęcka M., Gizejewski Z., Zielonka Ł., Gajęcki M., Nitkiewicz B., 2006. Zearalenone intoxication of game animals. Pol. J. Natur. Sc., 21, 1099–1106.
- [7] Price K.R., Fenwick G.R., 1985. Naturally occurring oestrogens in foods – a review. Food Addit Contam. 2, 73–106.



## ZASTOSOWANIE CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ DO WYKRYWANIA I OZNACZANIA DOKSYCYKLINY I CHLOROTETRACYKLINY W PASZCH LECZNICZYCH

### APPLICATION OF LIQUID CHROMATOGRAPHY FOR THE DETECTION AND DETERMINATION OF DOXYCYCLINE AND CHLOROTETRACYCLINE IN ANIMAL FEEDINGSTUFFS

**Ewelina Patyra, Monika Przeniosło-Siwczyńska, Krzysztof Kwiatek**

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Pasz,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, ewelina.patyra@piwet.pulawy.pl*

Zgodnie z Rozporządzeniem 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt od 1 stycznia 2006 r. antybiotyki mogą być stosowane wyłącznie w postaci pasz leczniczych [1]. Wprowadzenia pasz leczniczych na rynek niesie za sobą konieczność zapewnienia ścisłej kontroli przez Inspekcję Weterynaryjną nad wytwarzaniem, obrotem i stosowaniem pasz leczniczych. Jednym z kryteriów oceny pasz leczniczych jest stwierdzenie deklarowanej przez producenta zawartości substancji aktywnej w paszy. Do grupy substancji przeciwbakteryjnych stosowanych w paszach leczniczych należą między innymi tetracyklina – doksycyklina (DC) i chlorotetracyklina (CTC). Stosowane głównie w profilaktyce i leczeniu chorób bakteryjnych świń i drobiu.

**Cel pracy:** Opracowanie szybkiej i prostej metody oznaczania doksycykliny i chlorotetracykliny w paszach leczniczych dla zwierząt z wykorzystaniem chromatografii cieczowej z detektorem diodowym.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiła pasza wolna od doksycykliny i chlorotetracykliny, do której dodano ściśle określoną ilość wzorca oraz pasze lecznicze pobrane w czasie kontroli urzędowej, która obejmuje badania zawartości substancji czynnej. Z próbki paszy DC i CTC ekstrahowano buforem McIlvaine o pH 2,5 i 4, odwirowano i oczyszczono techniką ekstrakcji do fazy stałej na kolumnkach C18. Przesącz odparowano w strumieniu azotu i rozpuszczono w 1 ml fazy ruchomej. Próbki przed analizą chromatograficzną poddano filtrowaniu przez filtr strzykawkowy nylonowy.

**Wyniki i omówienie:** Opracowana metoda oznaczania doksycykliny i chlorotetracykliny w paszach leczniczych z zastosowaniem techniki chromatografii cieczowej z detektorem diodowym (DAD) dała dobre wyniki oznaczania ilości DC i CTC w paszach oraz wysoki odzysk substancji czynnych. W badaniach własnych optymalne warunki rozdziału chromatograficznego uzyskano przy zastosowaniu kolumny z adsorbentem oktadecylowym (C18). Zastosowano elucję gradientową przy użyciu faz ruchomych, które zawierały 5mM kwas szczawiowy-metanol-acetonitryl. Metoda została zastosowana do ilościowego oznaczania zawartości DC i CTC w próbkach pasz pobranych z wytwórni pasz leczniczych, wykazując użyteczność dla rutynowych analiz. Metoda ta może być stosowana w urzędowej kontroli w celu sprawdzenia oświadczeń producentów w odniesieniu do ilości substancji czynnych w paszach leczniczych i ich jednorodności.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Rozporządzenia (WE) nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt (Dz. Urz. UE L 268 z 18.10.2003, str. 29; Dz. Urz. UE Polskie wydanie specjalne, rozdz. 3, t. 40, str. 238).





## WYKRYWANIE I OZNACZANIE TYLOZYNY W PASZACH Z WYKORZYSTANIEM CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ ZE SPEKTROMETRIĄ MAS

## DETECTION AND DETERMINATION OF TYLOSIN IN ANIMAL FEEDINGSTUFFS BY LIQUID CHROMATOGRAPHY – MASS SPECTROMETRY

Monika Przeniosło-Siwczyńska, Aleksandra Grelik, Ewelina Kowalczyk, Krzysztof Kwiatek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Pasz,  
Al. Partyzantów 57, 24-00 Puławy, e-mail: monip@piwet.pulawy.pl

Tylozyna jest antybiotykiem makrolidowym stosowanym w medycynie weterynaryjnej. Zakres przeciwbakteryjnego działania tylozyny obejmuje bakterie Gram-dodatnie, lek wykazuje również aktywność przeciwko niektórym krętkom, chlamydiom oraz niektórym drobnoustrojom Gram-ujemnym. Tylozyna wykazuje szczególnie dużą aktywność przeciwko wybranym gatunkom mykoplazm. Ponadto oprócz celów terapeutycznych tylozyna była w przeszłości stosowana jako dodatek do pasz – stymulator wzrostu. W 1999 r. wprowadzono zakaz stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu, w tym tylozyny. Obecnie antybiotyk ten jest substancją czynną kilku premiksów leczniczych, na bazie których można wytwarzać pasze lecznicze.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły pasze fortyfikowane tylozyną oraz próbki pasz, które były badane w kierunku wykrywania obecności substancji przeciwbakteryjnych lub niedozwolonych antybiotykowych stymulatorów wzrostu metodą mikrobiologiczną jako metodą skринingową (przesiewową). Ponadto badane były pasze lecznicze z tylozyną oraz mieszanki czyszczące stosowane do czyszczenia linii technologicznych po wytworzeniu paszy leczniczej. Prowadzenie badań rozpoczęto od optymalizacji poszczególnych etapów analizy. Etap przygotowania próbki obejmował mielenie pasz granulowanych i przesiewanie pasz przez sito o wielkości oczek 1 mm. Tylozynę z paszy ekstrahowano metanolem po wcześniejszym zwilżeniu jej wodą, następnie próbki wirowano. Część uzyskanego supernatantu rozcieńczano wodą i oczyszczano na kolumnkach Oasis HLB kondycjonowanych metanolem i wodą. Oczyszczoną próbkę odparowywano w strumieniu azotu, a pozostałość rozpuszczano w wodnej fazie ruchomej. Analizę chromatograficzną prowadzono na chromatografie cieczowym Agilent 1200 sprzężonym z detektorem mas z zastosowaniem źródła ESI. Warunki analizy chromatograficznej: kolumna – C18, 150 mm x 4,6 mm, 5 μm; temperatura kolumny 30°C; skład fazy ruchomej – 0,005M kwas mrówkowy w wodzie/0,05 M kwas mrówkowy w acetonitrylu (10:90, V/V); szybkość przepływu fazy ruchomej – 0,4 ml/min. W zależności od rodzaju badanej próbki krzywa kalibracyjna obejmowała zakres odpowiadający zawartości tylozyny 0,5 mg/kg – 10 mg/kg oraz 10 mg/kg – 200 mg/kg w przypadku pasz leczniczych.

**Wyniki i omówienie:** Po zakończeniu etapu optymalizacji metody wykrywania tylozyny w paszach można sformułować następujące wnioski: na skuteczność ekstrakcji wpływ ma wybór odpowiednich rozpuszczalników oraz kolejność ich dodawania (zwilżenie wodą, a następnie wytrząsanie z metanolem); wyniki uzyskane przy użyciu kolumnek polimerowych Oasis HLB uznano za optymalne (porównując z kolumnkami ze złożem C18); korzystniejsze jest użycie kolumny chromatograficznej ze złożem C18, na której uzyskano lepsze wyniki niż w przypadku złoża C8; wpływ na jakość uzyskiwanych wyników mają również skład i szybkość przepływu fazy ruchomej, oraz objętość dozowanej próbki. Rozpoczęto walidację metody, opierając się na badaniu próbek fortyfikowanych na trzech poziomach zawartości tylozyny w 6 powtórzeniach dla każdego poziomu. Dla pozostałości tylozyny ustalono poziomy: 0,5 mg/kg; 5 mg/kg i 10 mg/kg, natomiast dla pasz leczniczych: 20 mg/kg; 100 mg/kg i 200 mg/kg. Na podstawie otrzymanych wyników zostanie wyznaczone zakres metody oraz liniowość, powtarzalność, odtwarzalność i odzysk metody.





## WALIDACJA METODY OZNACZANIA SULFAGUANIDYNY W PASZACH LECZNICZYCH Z WYKORZYSTANIEM CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ ZE SPEKTROMETRIĄ MAS

### VALIDATION OF THE METHOD OF DETERMINATION OF SULFAGUANIDINE IN MEDICATED FEED BY LIQUID CHROMATOGRAPHY – MASS SPECTROMETRY

Monika Przeniosło-Siwczyńska, Ewelina Kowalczyk, Aleksandra Grelik, Krzysztof Kwiatek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Pasz,  
Al. Partyzantów 57, 24-00 Puławy, e-mail: monip@piwet.pulawy.pl

Sulfonamidy to związki o silnym działaniu bakteriostatycznym dla wielu drobnoustrojów Gram-dodatnich i Gram-ujemnych stosowane w leczeniu infekcji bakteryjnych u ludzi i zwierząt. Mechanizm działania bakteriostatycznego sulfonamidów polega na konkurencji z kwasem para-aminobenzoowym, niezbędnym bakteriom do syntezy kwasu foliowego. Bakterie dają się „oszukać”, wbudowując w kwas foliowy sulfonamid – strukturę analogiczną do kwasu para-aminobenzoowego, co prowadzi do zahamowania syntezy DNA, a tym samym rozmnażania bakterii. Sulfonamidy są jedną z grup substancji przeciwbakteryjnych stosowanych jako substancje czynne w paszach leczniczych. Spośród nich najczęściej używana jest sulfaguanidyna. Stosowanie zwalidowanych metod do kontroli jakości wytwarzanych pasz leczniczych jest niezbędnym warunkiem do przeprowadzania analiz w ramach urzędowej kontroli pasz leczniczych mającej na celu badanie zgodności zawartości substancji czynnej z deklaracją oraz homogeniczności paszy leczniczej.

**Materiał i metody:** W badaniach wykorzystywano próbki paszy, które fortyfikowano sulfaguanidyną. W celu wyznaczenia odzysku i powtarzalności metody analizowano próbki pasz z dodatkiem sulfaguanidyny na trzech poziomach: 0,5 g/kg; 2 g/kg; 5 g/kg. Dla każdego poziomu wykonano po 6 powtórzeń. Analogicznie przeprowadzono badania dla wyznaczenia odtwarzalności, dodatkowo wykonano dwie serie oznaczeń. Sporządzono krzywą kalibracyjną w zakresie stężeń od 0,03 do 1,5 µg/ml, co odpowiadało zakresowi metody od 0,2 do 10 g/kg. Do badania zawartości sulfaguanidyny w paszach leczniczych opracowano i zwalidowano metodę z wykorzystaniem chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas. Sulfaguanidynę ekstrahowano z paszy mieszaniną zakwaszonego metanolu i wody. Odwirowane ekstrakty przed analizą chromatograficzną rozcieńczano wodą do HPLC 1000-krotnie. Analizę chromatograficzną prowadzono na chromatografie cieczowym Agilent 1200 sprzężonym z detektorem mas z zastosowaniem jonizacji chemicznej pod ciśnieniem atmosferycznym. Warunki analizy chromatograficznej: kolumna – C8, 150 mm x 4,6 mm, 5 µm; temperatura kolumny 30°C; skład fazy ruchomej – 0,01% kwas mrówkowy w acetonitrylu/0,01% kwas mrówkowy w wodzie (60:40, V/V); szybkość przepływu fazy ruchomej – 1 ml/min.

**Wyniki i omówienie:** Krzywą kalibracyjną, odzysk, precyzję wyznaczono na podstawie wyników badań trzech serii próbek dla trzech poziomów stężeń. Analizy ślepych próbek matrycy posłużyły do obliczenia granicy wykrywalności i oznaczalności metody. Wyniki walidacji opracowanej metody przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wyniki walidacji metody LC-MS oznaczania sulfaguanidyny w paszach leczniczych

Krzywa kalibracyjna	R = 0,9998		
LOD, g kg <sup>-1</sup>	0,04		
LOQ, g kg <sup>-1</sup>	0,07		
Poziomy stężenie, g kg <sup>-1</sup>	0,5	2,0	5,0
Odzysk, %	96,0	91,0	90,4
Powtarzalność, CV %	4,9	2,8	1,5
Odtwarzalność, CV %	6,2	5,9	4,3
Niepewność, U %	11,6	8,0	6,3

Jak wynika z zamieszczonej tabeli, uzyskano poprawne wyniki walidacji metody. Pozytywne wyniki walidacji opracowanej procedury pozwoliły na wdrożenie jej do badań w ramach urzędowej kontroli pasz leczniczych w zakresie oznaczania zawartości substancji czynnej i homogeniczności.



## OBRAZ MIKROSKOPOWY WĄTROBY ŚWIŃ OTRZYMUJĄCYCH NISKIE DAWKI MIKOTOKSYN W PASZY – BADANIA WSTĘPNE

### MICROSCOPIC PICTURE OF THE LIVER OF PIGS THAT RECEIVED THE FEED WITH LOW DOSES OF MYCOTOXINS – PRELIMINARY STUDY

Barbara Przybylska-Gornowicz<sup>1</sup>, Bogdan Lewczuk<sup>1</sup>, Magdalena Prusik<sup>1</sup>, Natalia Ziółkowska<sup>1</sup>,  
Magdalena Gajęcka<sup>2</sup>, Maciej Gajęcki<sup>2</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Histologii i Embriologii, <sup>2</sup>Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, Oczapowskiego 13, 10-713 Olsztyn, email: przybyl@uwm.edu.pl

Mikotoksyny to produkty przemiany materii grzybów pleśniowych, które w naszym klimacie powszechnie występują w pszenicy, jęczmieniu, owsie, ryżu, kukurydzy i sianie. Dane literaturowe wskazują na ich toksyczny, karcinogeny i mutageny wpływ na organizmy. Spożywane przez zwierzęta oraz ludzi wywołują w wielu narządach szereg niekorzystnych zmian na poziomie komórkowym, powodując groźne mikotoksykozy. Dane eksperymentalne wykazują, że nawet bardzo niskie dawki mikotoksyn zawarte w paszy i produktach spożywczych mogą wywierać niekorzystny wpływ na organizm człowieka i zwierząt.

**Cel pracy:** Określenie zmian w obrazie histologicznym wątroby świń, którym podawano w paszy niskie dawki zearalenonu (ZEA) i deoksyniwalenonu (DON) – dwóch mikotoksyn produkowanych przez grzyby z rodzaju *Fusarium* o silnym działaniu m.in. hepatotoksycznym.

**Materiał i metody:** W doświadczeniu wykorzystano loszki o początkowej masie około 20 kg, którym w ciągu 42 dni podawano *per os* mikotoksyny. Zwierzęta podzielono na 4 grupy: grupa A – otrzymywała ZEA – 20 µg/kg m.c.; 2) grupa B – DON – 8 µg/kg m.c.; 3) grupa C – mieszaninę ZEA (20 µg/kg m.c.) + DON (8 µg/kg m.c.); grupa D – była grupą kontrolną. Materiał do badań pobrano po 7., 21. i 42. dniu doświadczenia od 3 loszek z każdej grupy. Skrawki wątroby bezpośrednio po pobraniu utrwalano w 4% paraformaldehydzie w buforze fosforanowym przez 48 godzin, odwodniono i zatopiono w parafinie. Skrawki o grubości 7–10 µm barwiono w HE i badano w MŚ.

**Wyniki:** We wszystkich badanych skrawkach wątroby zwierząt doświadczalnych obserwowano wyraźny rozrost tkanki łącznej międzyzrazikowej oraz wzrost stopnia jej zwłóknienia. W mięszu wątroby obserwowano obecność różnej wielkości ognisk nekrotycznych, zawierających hepatocyty w różnym stopniu rozpadu. Stwierdzono wzrost liczby limfocytów, które na terenie zrazików tworzyły drobne nacieki (szczególnie liczne u loszek otrzymujących ZEA). Następowoło poszerzenie zatok wątrobowych w centrum zrazika, aczkolwiek nie było to zjawisko powszechne. Zwakuolizowanie hepatocytów w I strefie gronka wątrobowego u zwierząt doświadczalnych było najistotniejszą zmianą zaobserwowaną w odniesieniu do tych komórek. W wątrobie loszek otrzymujących ZEA zanotowano obecność licznych komórek Browicza-Kupfera w zatokach wątrobowych.

**Omówienie:** Przedstawione obserwacje są wynikiem wstępnych analiz materiału doświadczalnego. Precyzyjne określenie wszystkich skutków oddziaływania badanych mikotoksyn na budowę histologiczną wątroby będzie możliwe po wykonaniu pełnego zakresu planowanych badań. Jednakże już wstępne dane pozwalają na stwierdzenie, że obie mikotoksyny w dawkach użytych w doświadczeniu wywierają działanie hepatotoksyczne.

Badania wykonano w ramach projektu rozwojowego 12.0080.10.



## PREPARATY PROBIOTYCZNE DLA ZWIERZĄT

### PROBIOTIC PREPARATIONS FOR ANIMALS

Katarzyna Ślizewska, Jadwiga Moneta, Zdzisława Libudzisz

Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź, e-mail: katarzyna.slizewska@p.lodz.pl

Preparaty probiotyczne podawane zwierzętom hodowlanym w paszy lub zaaplikowane oralnie wpływają korzystnie na ich wzrost, poprzez stymulujące oddziaływanie na przewód pokarmowy i procesy w nim zachodzące. Większość preparatów probiotycznych, dostępnych w handlu, nie jest produkowana w Polsce i nie jest znana ich ekologiczna zgodność z mikroflorą zwierząt w polskich hodowlach. Z informacji podanej przez producenta nie wynika również, jakie są właściwości probiotyczne tych preparatów. Jednym z markerów oddziaływania zdrowotnego probiotyków jest aktywność antagonistyczna w stosunku do patogenów jelitowych.

**Cel badań:** Podanie liczby drobnoustrojów probiotycznych obecnych w preparatach (określenie, czy jest to poziom zgodny z poziomem zadeklarowanym przez producenta preparatu) oraz oznaczenie właściwości antagonistycznych w stosunku do patogenów jelitowych tj.: *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* i *Clostridium perfringens*.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiło 8 różnych preparatów probiotycznych (EM granulaty, EM płynne, Toyocerin, BioPlus 2, Cen-a-mix, Fermactiv, Lavipan L, Lavipan C). Preparaty te zawierają różnorodne kompozycje mikroorganizmów o właściwościach probiotycznych, głównie bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Enterococcus faecium* oraz drożdże *Saccharomyces cerevisiae*.

Liczbę żywych komórek drobnoustrojów probiotycznych w badanych preparatach określano metodą płytkową, stosując do tego celu pożywki zalecane przez Polskie Normy oraz dane literaturowe.

Aktywność antagonistyczną w stosunku do szczepów referencyjnych (*Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 14028 oraz *Clostridium perfringens* ATCC 13124) oznaczono metodą słupkową.

**Wyniki i omówienie:** Badane preparaty probiotyczne cechowały się zróżnicowaną żywotnością komórek bakterii i drożdży. Liczba bakterii z rodzaju *Lactobacillus* kształtowała się, zależnie od rodzaju preparatu, na poziomie – od poniżej  $10^3$  jtk/g (EM granulaty) do  $4,9 \times 10^8$  jtk/g (Cen-a-mix). Liczba bakterii *Bacillus cereus* obecnych w preparacie Toyocerin wynosiła średnio  $2,4 \times 10^8$  jtk/g. Liczba *Bacillus subtilis* i *Bacillus licheniformis* w preparacie BioPlus 2 wynosiła średnio  $3,4 \times 10^9$  jtk/g. Bakterie *Enterococcus faecium* obecne były na poziomie od  $3,3 \times 10^8$  jtk/g (Cen-a-mix) do  $4,4 \times 10^8$  jtk/g (Fermactiv). Liczba drożdży była zróżnicowana i wynosiła od poniżej  $10^1$  jtk/g (EM granulaty) do  $3,0 \times 10^3$  jtk/g (EM płynne). Dla większości preparatów oznaczony poziom występującej mikroflory probiotycznej był zgodny z poziomem deklarowanym przez producenta preparatu.

Właściwości antagonistyczne w stosunku do *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 wykazały jedynie preparaty Lavipan L oraz Lavipan C, w stosunku do *Escherichia coli* ATCC 14028 preparaty EM, Cen-a-mix, Formactiv, Lavipan L oraz Lavipan C, natomiast w stosunku do *Clostridium perfringens* ATCC 13124 preparaty EM, Cen-a-mix, Lavipan L oraz Lavipan C. Pozostałe preparaty nie wykazały właściwości antagonistycznych w stosunku do testowanych szczepów patogennych.



## ZAGROŻENIE PRZENOSZENIA GRZYBÓW PLEŚNIOWYCH W KOMPONENTACH PASZOWYCH PRZEZ SZKODNIKI NA PRZYKŁADZIE *SITOPHILUS GRANARIUS*

### THE TRANSFER RISK OF MOLDS IN FEED COMPONENTS BY FLOUR BEETLE ON PARADIGM OF *SITOPHILUS GRANARIUS*

Tadeusz Bakuła

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail bakta@uwm.edu.pl

Wołek zbożowy (*Sitophilus granaria*, syn. *Calandra granaria*), najpospolitszy i najgroźniejszy szkodnik magazynowy wielkości 2,5–5,1 mm. Ma zrośniętą chitynową okrywą skrzydeł, jednolitej jasnobrązowej barwy u młodych i czarnej u starszych. Przedplecze jest wydłużone i pokryte podłużnymi dołkami. Ma charakterystyczną wydłużoną głowę w postaci ryjka, od jego podstawy odchodzą czułki w kształcie litery V. Nie fruwa, bardzo szybko biega, prowadzi nocny tryb życia. Wędruje i żeruje, przeciskając się między ziarnem w całej jego masie. Samice tuż po przepoczwazczeniu się i opuszczeniu ziarna przystępują do kopulacji, a po kilku lub kilkunastu dniach składają jaja pojedynczo do ziarna zboża. Cały rozwój od jaja do owada dorosłego odbywa się w ziarnie – ukryte porażenie ziarna. Samica dziennie składa od 1–9 jaj, w ciągu życia może złożyć do 150, potem ginie w krótkim czasie. Optymalna temperatura rozwoju wołków wynosi 26°C, a wilgotność ziarna ponad 14%. W miejscach dużego skupienia wołków temperatura ziarna może wzrosnąć nawet o 10°C. W warunkach optymalnych całkowity czas rozwoju jednego pokolenia wołków trwa około 35 dni, w niesprzyjających warunkach może przedłużyć się do 200. Dorosłe osobniki żyją przeciętnie 150 dni. W Polsce w ciągu roku pojawiają się 2–3 pokolenia. W magazynach zbożowych, w których spotykane są produkty porażone przez *Sitophilus granaria* i nie są podejmowane szybkie działania eliminujące te szkodniki, dochodzi do zanieczyszczenia produktów nie tylko żywymi osobnikami, ale i ich odchodami oraz dużą ilością martwych szkodników. Przy zwiększonej temperaturze i wilgotności ziarna szybko rozwijają się grzyby pleśniowe, a wędrujące szkodniki roznoszą je w całej masie ziarna.

Główną metodą dezynsekcji jest gazowanie zboża. Zabieg ten wykonywany jest w różnych magazynach w stosunku do różnych zbóż, niestety często po zabiciu dorosłych osobników zboże dalej jest magazynowane bez oczyszczenia.

Obserwacje terenowe skłoniły do podjęcia pilotażowego badania, którego celem było dokonanie analizy próbek terenowych pszenicy zainfestowanej przez *Sitophilus granaria* i określenie korelacji z występowaniem grzybów pleśniowych.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowiły próbki pszenicy pochodzące z 5 magazynów, w których stwierdzono obecność *Sitophilus granaria*. Metodą badawczą była dokładna analiza próbek pod mikroskopem stereoskopowym o maksymalnym powiększeniu 1x160. Określano poziom infestacji produktu (liczbę szkodników żywych i martwych w formie imagona 1 kg próbki) oraz obecność strzępków grzybni.

**Wyniki i omówienie:** We wszystkich badanych próbkach stwierdzono obecność *Sitophilus granaria* w liczbie: 1–48 osobników na 1 kg, 2–34 szt./1 kg, 3–6 szt./1 kg, 4–24 szt./1 kg i 5–4 szt./1 kg. W próbkach 1., 2. i 4. wykazano obecność grzybów pleśniowych z rodzaju *Aspergillus*, a na martwych osobnikach *Sitophilus granaria* grzyby z rodzaju *Syncephalastrum*. Największy rozrost grzybni stwierdzono w próbce 1. Natomiast w próbkach 3. i 5. nie odnotowano obecności grzybni. Na podstawie badań pilotażowych stwierdzono zależność pomiędzy liczbą szkodników zbożowo-mącznych a wielkością zanieczyszczenia grzybami pleśniowymi. Można przypuszczać, że podstawowym czynnikiem warunkującym wielkość infestacji zboża szkodnikami i poziomem zanieczyszczenia grzybami pleśniowymi jest czas i warunki przechowywania. Uzyskane wstępne wyniki skłaniają do podjęcia bardziej szczegółowych badań w tym zakresie.





## WPŁYW EKSPERYMENTALNEJ INTOKSYKACJI ZEA ORAZ DDE NA WYBRANE PARAMETRY W UKŁADZIE ROZRODCZYM LOSZEK

### INFLUENCE OF EXPERIMENTAL INTOXICATION ZEA AND DDE ON CHOOSEN PARAMETERS IN REPRODUCTIVE TRACT OF IMMATURE FEMALE PIGS

Ewa Jakimiuk<sup>1</sup>, Alicja Niewiadowska<sup>2</sup>, Magdalena Misiukiewicz-Poć<sup>3</sup>, Magdalena Gajęcka<sup>1</sup>, Kazimierz Obremski<sup>1</sup>, Jarosław Młynarczyk<sup>4</sup>, Magdalena Mróz<sup>1</sup>, Michał Dąbrowski<sup>1</sup>, Maciej Gajęcki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: ewa.jakimiuk@uwm.edu.pl

<sup>2</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Farmakologii i Toksykologii, Aleja Partyzantów 57, 24-100 Puławy

<sup>3</sup>Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Olsztynie, Dział Patomorfologii, ul. Żołnierska 18, 10-561 Olsztyn

<sup>4</sup>Polska Akademia Nauk, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, ul. J. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

Badania monitoringowe potwierdzają obecność substancji niepożądanych, w tym związków o właściwościach hormonalnych, pochodzenia naturalnego i/lub antropogennego w środkach żywienia zwierząt. Egzoestrogeny stwierdzone w paszach występują najczęściej w stężeniach nieprzekraczających wartości „dopuszczalnych” – uznanych za niewywierające negatywnego wpływu na zdrowie i produktywność zwierząt. Zearalenon (ZEA) oraz dwuchlorodwufenylochwloroetylen (DDE), z uwagi na właściwości *estrogen-like*, wykazują potencjał do interferowania z endogennymi czynnikami warunkującymi prawidłowy przebieg dojrzewania płciowego zwierząt oraz modulowania ich aktywności rozrodczej.

**Cel badań:** Stwierdzenie występowania oraz ocena charakteru zaburzeń w wybranych tkankach układu rozrodczego niedojrzałych płciowo loszek poddanych ekspozycji *per os* na „dopuszczalne-niskie” dawki ZEA oraz DDE.

**Materiały i metody:** Badanie przeprowadzono na 36 loszkach (20±2,0 kg) losowo podzielonych na grupy doświadczalne, (n=9): K; D1; D2; D3 otrzymujące odpowiednio: *placebo*, ZEA w dawce 0,1 mg/kg paszy/dz./szt., DDE w dawce 0,5 mg/kg paszy/dz./szt., ZEA oraz DDE w dawce 0,1 oraz 0,5 mg/kg paszy/dz./szt. W 14., 28., 42. dniu doświadczenia pozyskano tkanki układu rozrodczego (jajnik, macica) celem przeprowadzenia: i) makroskopowych pomiarów morfometrycznych, ii) oceny histopatologicznej (HE), iii) oceny proliferacji i apoptozy (IHC). Stężenia progesteronu, androstenedionu, testosteronu, estradiolu oraz estronu oznaczono w surowicy krwi metodą radioimmunologiczną. Stężenia ZEA i DDE oraz ich metabolitów w podwzgórzcu, jajniku, macicy wykonano odpowiednio metodą wysoko sprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fluorescencyjną oraz kapilarnej chromatografii gazowej z detekcją wychwytu elektronów.

**Wyniki i omówienie:** Niedojrzałe płciowo samice świń, szczególnie w okresie *pre-* i *peripubertal*, są szczególnie wrażliwe na działanie związków o właściwościach estrogennych. Plejotropowy charakter oddziaływania EDCs (*endocrine disrupting chemicals*) stwarza ryzyko zaburzenia homeostazy endokrynnej ustroju nawet przy ekspozycji na „niskie” stężenia EDCs. Podczas ekspozycji loszek na „niskie” dawki ZEA i/lub DDE nie stwierdzono występowania zewnętrznych objawów hyperestrogenizmu. Intoksykacja pokarmowa skutkowała zarówno gromadzeniem tych związków, na każdym z etapów doświadczenia, w tkankach układu rozrodczego (analiza toksykologiczna) jak i występowaniem zmian strukturalnych oraz czynnościowych (m.in. zmiany w stężeniu steroidowych hormonów płciowych). W świetle otrzymanych rezultatów należy podkreślić potrzebę weryfikacji „dopuszczalnych dawek” EDCs, zwłaszcza w odniesieniu do środków żywienia stosowanych w żywieniu samic znajdujących się na istotnym, dla ich przyszłego potencjału reprodukcyjnego, etapie rozwoju.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Charles G.D., Gennings C., Tornesi B., Lynn K.H., Zacharewski T.R., Bhaskar G.B., Carney E.W., 2007. Analysis of the interaction of phytoestrogens and syntetic chemicals: An *in vitro/in vivo* comparison. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 218, 280–288.
- [2] Jakimiuk E., Gajęcka M., Jana B., Brzuzan P., Zielonka Ł., Skorska-Wyszyńska E., Gajęcki M., 2009. Factors determining sensitivity of prepubertal gilts on hormonal influence of zearalenone. *Polish Journal of Veterinary Science*, 9, 12 (1), 149–158.
- [3] Wójtowicz A.K., Kajta M., Gregoraszczyk E.Ł., 2007. DDT- and DDE-induced disruption of ovarian steroidogenesis in prepubertal porcine ovarian follicles: a possible interaction with the main steroidogenic enzyme and estrogen receptor  $\beta$ . *Journal of Physiology and Pharmacology*, 58 (4), 873–885.





## ZDROWOTNE SKUTKI KARMIEŃIA SZCZURÓW PASZĄ PORAZONĄ PRZEZ SZKODNIKA MAGAZYNOWEGO *TRIBOLIUM CONFUSUM*

### THE HEALTH EFFECTS OF FEEDING OF RATS FEED INFECTED BY THE FLOUR BEETLE *TRIBOLIUM CONFUSUM*

Łukasz Bartłomiej Lis, Tadeusz Bakuła

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: bakta@uwm.edu.pl

Trojszyk ulec (*Tribolium confusum*) jest najczęściej spotykanym szkodnikiem magazynowym w paszach i surowcach paszowych. Stanowi on istotne zagrożenie toksykologiczne ze względu na wytwarzane benzochinony. Do grupy benzochinonów należą 2-metylo i 2-etylo-1,4-benzochinon, wydzielina gruczołów obronnych Trojszyków. Wśród istotnych cech benzochinonów wymieniane są właściwości rakotwórcze, wywieranie hamującego wpływu na wzrost licznych drobnoustrojów, odstrasżające – wydzielane w chwili zagrożenia oraz wpływające na agregację w populacji. Zdaniem wielu autorów, właściwości tych związków nie są do końca poznane [1].

**Cel pracy:** Określenie stanu zdrowotnego szczurów żywionych paszą porażoną *Tribolium confusum*, na podstawie analizy wybranych parametrów biometrycznych i histopatologicznych

**Materiał i metody:** Karmę doświadczalną przygotowano z płatków owsianych, jęczmiennych, zarodków pszenicznych uzupełnionych o składniki mineralne i witaminy. Przygotowaną karmę podzielono na dwie części, z których jedna została zainfestowana w ilości 300 szt. Trojszyka ulca na 1 kg. Hodowla szkodników trwała 5 miesięcy. Po tym okresie w karmie określono poziom infestacji (5400 owadów/kg). Do badań użyto szczurów, podzielono je na 3 grupy po 8 sztuk: T – grupa otrzymująca 100% zainfestowanej karmy (14 g/dobę); P – otrzymywała mieszaninę 50% karmy zainfestowanej i 50% karmy kontrolnej łącznie 14 g/dobę; K – grupa kontrolna otrzymywała karmę bez szkodników. Doświadczenie żywieniowe trwało przez okres 4 tygodni. Po zakończeniu doświadczenia od szczurów pobrano wycinki jelit cienkich i grubych do badań biometrycznych oraz histopatologicznych.

**Wyniki i omówienie:** U badanych zwierząt stwierdzono zmniejszenie średniej masy ciała (m.c.) o 14,3 g i 8,7 g odpowiednio w grupie D2 i D1 względem grupy kontrolnej (166,2 g). Średnia masa jelit cienkich była odwrotnie proporcjonalna do średniej m.c. we wszystkich grupach. Natomiast średnia masa jelita grubego była skorelowana ze średnią m.c. szczurów. W badaniach histopatologicznych u czterech zwierząt z grupy D2 stwierdzono ogniska martwicze powierzchniowych części kosmków błony śluzowej jelita czczego, nadmierne złuszczenie się komórek nabłonka gruczołowego, przekrwienie i nacieki komórek limfocytarnych. Na powierzchni zarejestrowano zwiększoną ilość śluzu. U wszystkich zwierząt z grupy D1 stwierdzono martwicę części szczytowej kosmków jelita czczego, masywne złuszczenie się komórek nabłonka gruczołowego, nacieki limfocytarne i komórek eozynochłonnych oraz powiększone grudki chłonne. W jelicie grubym u wszystkich zwierząt z grupy D2 wykazano nacieki w błonie śluzowej komórek limfocytarnych, u pięciu zwierząt obrzęk, przekrwienie i powiększone grudki chłonne. Na powierzchni błony śluzowej stwierdzono zwiększoną ilość śluzu. U wszystkich zwierząt grupy D1 odnotowano obrzęk i przekrwienie błony śluzowej i podśluzowej jelita grubego, u trzech zwierząt nacieki komórek limfocytarnych. W monografii [2] opisano miejscowe zmiany na skórze takie jak odbarwienie, rumień i pojawienie się guzków oraz nekrozę. Duże dawki wywoływały lokalne porażenia, drgawki kloniczne, zmniejszenie ciśnienia tętniczego krwi i śmierć z powodu porażenia ośrodków oddechowych w rdzeniu przedłużonym. Obserwowano również objawy uszkodzenia nerek u zatrutych zwierząt. Stosowana w doświadczeniu żywieniowym karma porażona Trojszykiem ulcem wywołała zmiany wsteczne w jelitach cienkich i grubych szczurów oraz zmniejszone przyrosty masy ciała.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Lis Ł.B., Bakuła T., Baranowski M., Czarnewicz A., 2011. The carcinogenic effects of benzoquinones produced by the flour beetle. Pol. J. Vet. Sci. 14, 159–164.
- [2] IARC, 1999. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Lyon 71, 1245–1250.



**SEKCJA  
HIGIENY ŻYWNOŚCI  
I WETERYNARYJNEJ OCHRONY  
ZDROWIA PUBLICZNEGO**





## WPŁYW CZYNNIKÓW ŚRODOWISKA NA WIRULENCJĘ MIKROORGANIZMÓW, PRZYKŁAD *LISTERIA MONOCYTOGENES*

### ENVIROMENTAL FACTORS EFFECTS ON VIRULENCE OF MICROORGANISMS, SUCH AS *LISTERIA MONOCYTOGENES*

**Jacek Bania**

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, ul. Norwida 29, 50-375 Wrocław, e-mail: jacek.bania@up.wroc.pl*

*Listeria monocytogenes*, patogen przenoszony przez żywność, ma zdolność wnikania do cytozolu wielu typów nefagocytycznych komórek eukariotycznych. Potrafi przemieszczać się również z komórki do komórki. Z uwagi na swoje przystosowania od lat jest modelowym mikroorganizmem wewnątrzkomórkowym, na którego przykładzie wyjaśniono wiele mechanizmów patogenezы.

Mikroorganizmy potrafią przeciwstawiać się niekorzystnym czynnikom środowiska. W przypadku bakterii chorobotwórczych zdolności te mogą zwiększać ich patogenność poprzez ułatwianie przeżycia procesów utrwalania żywności, a także warunków panujących w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt.

Poznano wiele mechanizmów ułatwiających bakteriom pokonywanie skutków działania niskiego pH, podwyższonej i obniżonej temperatury, zwiększonego ciśnienia osmotycznego i wielu innych czynników stresowych. W celu ochrony własnej bakterie wytworzyły specyficzne mechanizmy, warunkujące ochronę przed pojedynczym czynnikiem, a także wspólne mechanizmy wzbudzone działaniem wielu różnych niekorzystnych czynników. Do tych ostatnich należy zdolność syntezy alternatywnych czynników sigma, umożliwiających aktywację genów odpowiedzi na różne rodzaje stresu.

Badania ostatnich lat wykazały, iż inicjacja odpowiedzi na stres ma dużo większe znaczenie dla wirulencji *L. monocytogenes* niż tylko przeciwstawianie się niekorzystnym czynnikom środowiska.

Wiadomo obecnie, iż aktywacja jednego z alternatywnych czynników sigma w odpowiedzi na stres prowadzi do zmiany ekspresji genów warunkujących proces wnikania *L. monocytogenes* do wnętrza komórek eukariotycznych. Dotychczas wykazano, iż obniżone pH, zwiększone ciśnienie osmotyczne, zmiany gęstości hodowli bakteryjnej oraz podwyższona temperatura w znacznym stopniu modyfikują proces inwazji ludzkich linii komórkowych przez *L. monocytogenes*.

Coraz więcej danych wskazuje, iż środowisko może modulować wirulencję mikroorganizmów, jednak wciąż mało wiadomo na temat mechanizmów warunkujących te interakcje. Przypuszczalnie wiele z nich uda się poznać dzięki badaniom *L. monocytogenes*.





## ANALIZA ZAGROZEŃ RYZYKA W ŁAŃCUCHU ŻYWNOŚCIOWYM

### HAZARD RISK ANALYSIS OF THE FOOD CHAIN

Krzysztof Kwiatek

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Pasz,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: kwiatekk@piwet.pulawy.pl*

We współczesnym świecie kwestia bezpieczeństwa żywności w każdym ogniwie łańcucha żywnościowego jest przedmiotem szczególnej troski w skali globalnej, zatem dotyczy naszego kraju, Unii Europejskiej i pozostałych krajów świata. Pierwszego stycznia 2006 r. we Wspólnocie Europejskiej rozpoczął się bowiem proces wdrażania nowych regulacji prawnych z zakresu higieny środków spożywczych i pasz, w tym produktów pochodzenia zwierzęcego. Istotną nowością jest natomiast forma prawna aktów unijnych wprowadzających nowe przepisy, kompleksowość ich regulacji, jak również jednoczesne wdrożenie szczegółowych zasad organizacji kontroli urzędowych. Szczególnie wyraziście wyraża się to w polityce bezpieczeństwa żywności Unii Europejskiej i prawie żywnościowym. Ogólne zasady prawa żywnościowego ustanowione w rozdziale II Rozporządzenia (WE) Nr 178/2002, należy uznać za przepisy wspólne dla wszystkich spraw związanych z bezpieczeństwem i higieną żywności w krajach członkowskich Unii Europejskiej. Oznacza to, że dwa procesy powinny mieć miejsce w łańcuchu żywnościowym. Pierwszy z nich to analiza zagrożeń, która jest realizowana poprzez opracowywanie zasad dobrych praktyk (GMP, GHP) oraz systemu HACCP. W zasadzie ten proces jest wdrożony, aczkolwiek wymaga ciągłego doskonalenia. Drugi proces to analiza ryzyka, który ma zadanie doskonalenie ochrony zdrowia i życia ludzkiego poprzez prawo żywnościowe. W roku 2007 KKŻ FAO/WHO opublikowała robocze zasady prowadzenia analizy ryzyka do urzędowego zastosowania w procesie doskonalenia bezpieczeństwa żywności. Celem tego opracowania jest określenie zasad funkcjonowania analizy ryzyka, podania wskazań służących pomocą poszczególnym władzom państwowym w ocenie, zarządzaniu i komunikowaniu o ryzyku związanym z żywnością i mającym wpływ na zdrowie ludzkie. Przyjmuje się, że głównym założeniem analizy ryzyka w obszarze bezpieczeństwa żywności, jest doskonalenie ochrony zdrowia publicznego. Zasady te odnoszą się zarówno do kwestii urzędowej kontroli żywności, jak również do spraw związanych z handlem żywnością i powinny być stosowane konsekwentnie w sposób niedyskryminujący. Przyjęto, że analiza ryzyka powinna, w możliwym zakresie, stać się integralną częścią państwowego systemu bezpieczeństwa żywności. Wprowadzenie postanowień na poziomie krajowym związanych z zarządzaniem ryzykiem musi być wsparte odpowiednio działającym systemem kontroli żywności. Proces analizy ryzyka powinien spełniać szereg warunków oraz winien być konsekwentnie stosowany, w sposób otwarty i przejrzysty. Ważnym elementem jest zapewnienie właściwego udokumentowania, a dokonywana ocena i przeglądy muszą być uznawane za właściwe oraz odpowiednie w świetle zgromadzonych danych naukowych. Analiza ryzyka powinna wynikać ze złożonego podejścia składającego się z różnych, lecz blisko powiązanych elementów tj.: oceny ryzyka, zarządzania ryzykiem i komunikowania o ryzyku, zdefiniowanych przez Komisję Kodeksu Żywnościowego i prawo żywnościowe UE. Jednocześnie należy mieć świadomość, że każdy wymieniony element jest integralną składową analizy ryzyka. Te trzy elementy powinny być dokumentowane w sposób jasny, pełny, przejrzysty i systematyczny. Dokumentacja powinna być udostępniona wszystkim zainteresowanym stronom, jednak z poszanowaniem prawnej troski o zachowanie poufności. Efektywna komunikacja i porozumiewanie ze wszystkimi zainteresowanymi stronami powinny być także zapewnione w czasie całego procesu analizy ryzyka.



## MIKROBIOLOGIA PROGNOSTYCZNA – ZASTOSOWANIA PRAKTYCZNE

### PREDICTIVE MICROBIOLOGY – PRACTICAL APPLICATIONS

**Jacek Szczawiński**

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa,  
e-mail: jacek\_szczawinski@sggw.pl

Podstawowym celem mikrobiologów i technologów żywności jest uzyskanie bezpiecznych dla zdrowia konsumenta i trwałych produktów spożywczych. Do osiągnięcia tego celu niezbędna jest inaktywacja lub zahamowanie wzrostu i aktywności niepożądanych drobnoustrojów, które mogą powodować zatrucia i zakażenia pokarmowe lub psucie się środków spożywczych. Od dawna prowadzone są zatem badania nad wpływem czynników środowiskowych oraz procesów technologicznych na zachowanie się mikroorganizmów w żywności. Do ilościowej interpretacji wyników tych badań zaczęto powszechnie stosować modelowanie matematyczne, co doprowadziło do powstania nowego działu mikrobiologii żywności – mikrobiologii prognostycznej, która rozwija się w ostatnich latach niezwykle dynamicznie i jest coraz powszechniej wykorzystywana w rutynowej pracy producentów żywności oraz służb inspekcyjnych.

Jedną z przyczyn tego zjawiska są zmiany w europejskim prawie żywnościowym ukierunkowane na poprawę bezpieczeństwa żywności, a zwłaszcza obligatoryjne wprowadzenie systemu HACCP, analizy ryzyka (Rozporządzeniem WE nr 178/2002) oraz kryteriów mikrobiologicznych dla żywności (Rozporządzenie WE nr 2073/2005 i 1441/2007).

W systemie HACCP możliwość przewidywania reakcji drobnoustrojów może być wykorzystana w analizie zagrożeń i określaniu środków kontrolnych, ustalaniu poziomów docelowych i limitów krytycznych oraz weryfikacji systemu.

Pojęcie analizy ryzyka zostało określone w prawie żywnościowym jako postępowanie składające się z trzech powiązanych ze sobą elementów obejmujących: ocenę ryzyka, zarządzanie ryzykiem i informowanie o ryzyku. Ocena ryzyka, w tym również ryzyka mikrobiologicznego, jest wspartym naukowo procesem składającym się z czterech etapów: identyfikacji zagrożenia, charakterystyki niebezpieczeństwa, oceny narażenia oraz charakterystyki ryzyka. Modele prognostyczne są obecnie cennym narzędziem wykorzystywanym głównie w dwóch ostatnich etapach oceny ryzyka mikrobiologicznego, tj. przy ocenie narażenia oraz charakterystyce ryzyka.

Przy stosowaniu kryteriów mikrobiologicznych zaleca się, między innymi, wykorzystanie modeli prognostycznych do określenia możliwości rozwoju *L. monocytogenes* w produktach spożywczych.

Polskim producentom żywności pochodzenia zwierzęcego praktyczne wykorzystanie modelowania matematycznego powinny znacznie ułatwić wyniki projektu rozwojowego N R12 0097 06/2009 „Zastosowanie mikrobiologii prognostycznej do modelowania bezpieczeństwa żywności” realizowanego obecnie w kilku krajowych ośrodkach naukowych. Kierownikiem tego projektu jest prof. dr hab. Stefan Ziajka z Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] McKellar R. C., Lu X., 2004. Modeling microbial responses in food. CRC Press.



## JAKOŚĆ ZDROWOTNA PRODUKTÓW POZYSKIWANYCH OD ŚLIMAKÓW W POLSCE

### QUALITY HEALTH PRODUCTS OBTAINED FROM SNAILS IN POLAND

Krzysztof Szkucik

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: krzysztof.szkucik@up.lublin.pl

Walory ślimaków ceniono już w starożytnym Rzymie, gdzie przypisywano im także właściwości lecznicze oraz stosowano jako afrodyzjak. Ślimaki pozyskiwane w Polsce pochodzą zarówno z hodowli fermowych: *Cornu aspersum maxima* i *Cornu aspersum aspersum* oraz ze zbiorów ślimaka winniczka (*Helix pomatia*). Produktami spożywczymi pozyskanymi ze ślimaków jest mięso, otrzymywane z części mięśniowej ślimaka zwanej stopą oraz kawior produkowany z jaj ślimaka szarego. Oprócz produktów jadalnych ze ślimaków pozyskuje się również śluz (przemysł kosmetyczny) i muszle używane do celów dekoracyjnych, a także do podawania dań ze ślimaków.

Po uboju, który najczęściej wykonuje się za pomocą pary wodnej następuje etap oddzielenia muszli. Rozbiór tuszek polega na oddzieleniu stopy ślimaka od worka trzewiowego. Kolejnym etapem obróbki są: mycie, sortowanie, blanszowanie oraz pakowanie, a następnie mrożenie i składowanie gotowego produktu.

Składane przez *Cornu aspersum* jaja stały się surowcem do produkcji solonej ikry ślimaczej. Zniesione jaja są zbierane, myte ręcznie i indywidualnie selekcionowane, poddawane procesowi leżakowania w solance, a następnie po odpowiednim przygotowaniu konfekcjonowane w słoiczkach.

Mięso tych ślimaków charakteryzuje się stosunkowo wysoką zawartością białka (15–16%), przy jednocześnie niskiej zawartości tłuszczu (1,2–2,4%). Największą część w mięsie ślimaków stanowi woda. Dlatego surowiec jadalny uzyskiwany ze ślimaków ma niską wartość energetyczną, a białka mają niską wartość biologiczną, ponieważ w mięsie ślimaków występuje wysoki poziom tkanki łącznej. W tłuszczu ślimaków aż 75% stanowią kwasy nienasycone z grupy n-3 i n-6. Najkorzystniejsza proporcja pomiędzy kwasami nasyconymi oraz jedno- i wielonienasyconymi występuje w tłuszczu winniczka.

Kawior z ikry ślimaka szarego wyróżnia się pozytywnie pod względem zawartości tłuszczu – prawie dwukrotnie wyższej niż w kawiorze ryb jesiennym – i wynosi średnio 9,96%. Natomiast zawartość białka w ikrze ślimaka jest podobna do jego poziomu w mięsie i wynosi ok. 16%.

W badaniach własnych bakterii rodzaju *Salmonella* nie stwierdzono próbek surowego mięsa ślimaków. Według danych piśmiennictwa bakterie te odnotowano nawet w 30% próbek. *Listeria monocytogenes* wykrywana jest najczęściej w początkowych fazach produkcji mięsa ślimaków, począwszy od etapu odbioru żywych zwierząt, poprzez mycie, parowanie, aż do etapu usunięcia muszli. Dopiero kolejne etapy postępowania produkcyjnego, czyli pierwsze i drugie gotowanie, powodują zniszczenie tych drobnoustrojów zawartych w mięsie. W surowym mięsie ślimaków wykazano także obecność gronkowców koagulazododatnich. Zanieczyszczenie surowego mięsa ślimaków drobnoustrojami z rodziny *Enterobacteriaceae* osiągało poziom do  $6,8 \times 10^4$  jtk/g, a ogólne zanieczyszczenie bakteriami mezofilnymi – nawet  $7,2 \times 10^6$  jtk/g. W przypadku większości drobnoustrojów termiczna obróbka mięsa powodowała drastyczne obniżenie ich liczby. Drobnoustrojami stwarzającymi duże problemy w hodowlach ślimaków, a jednocześnie będącymi zagrożeniem dla zdrowia człowieka są *Aeromonas hydrophila* i *A. formicans* oraz *Pseudomonas aeruginosa*.



## WYSTĘPOWANIE NOROWIRUSÓW GENOGRUPY I I II W MAŁŻACH BLASZKOSKRZELNYCH POCHODZĄCYCH Z MORZA BAŁTYCKIEGO

### PREVALENCE OF NOROVIRUS GENOGRUP I AND II IN THE BIVALVE MOLLUSCS ORIGINATED FROM THE BALTIC SEA

Ewelina Bigoraj, Marta Chrobocińska, Ewa Kwit

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii Żywności i Środowiska, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: ewelina.bigoraj@piwet.pulawy.pl

W ostatnich latach wykazano, że w wielu przypadkach przyczyną infekcji pokarmowych u człowieka mogą być wirusy, zwłaszcza kaliciwirusy należące do rodzaju *Norovirus* (NoV), przenoszone głównie przez żywność i wodę (tzw. foodborne viruses). Jednym ze źródeł zakażenia są zanieczyszczone norowirusami małże blaszkoskrzelne. Sposób pobierania pokarmu przez małże poprzez filtrowanie wody powoduje kumulację i koncentrację w ich ciele między innymi wirusów, przy jednoczesnym oczyszczaniu wody [1, 2].

**Cel badań:** Określenie występowania norowirusów genogrupy I i II (NoV GI i GII) w omułkach zbieranych w latach 2010–2011 w 4 rejonach wybrzeża Morza Bałtyckiego.

**Materiał i metody:** Do badań użyto 13 partii omułków. Z każdej partii przygotowano 4 lub 6 próbek zbiorczych (gruczoły trawienne pobrane od 8–10 lub 10–15 omułków, w zależności od ich wielkości). W sumie przebadano 76 próbek zbiorczych. Detekcję i różnicowanie norowirusów genogrupy I i II prowadzono metodą RT-PCR, a następnie hybrydizacją metodą slot blot z użyciem specyficznych dla każdej genogrupy sond oligonukleotydowych. W reakcji RT nested-PCR uzyskano fragmenty genu kodującego białko kapsydu i genu RNA-zależnej polimerazy RNA (RdRp), które następnie poddano sekwencjonowaniu.

**Wyniki i omówienie:** Obecność norowirusów GI stwierdzono w 3 próbkach (3,94%), zaś GII w 25 próbkach (32,89%). Zanieczyszczenie mieszane obydwoma genogrupami wykazano w 3 próbach. Spośród 25 próbek dodatnich dla NoVGII dla 10 uzyskano sekwencje nukleotydowe fragmentu genu białka kapsydu i dla 6 genu RdRp. Próbkę dodatnią, które poddano analizie sekwencyjnej, pochodziły z: okolic Zatoki Puckiej (lipiec 2010 – 4 próbki; lipiec 2011 – 2 próbki) oraz pełnego morza w okolicach Słupska (czerwiec 2011 – 4 próbki). Analiza uzyskanych sekwencji wykazała wysoki (98%) stopień homologii do sekwencji NoV genotypu GII.4 zawartych w bazie danych GenBank. NoV GII.4 jest najczęściej wykrywanym genotypem w przypadkach epidemii występujących u ludzi, chociaż przyczyny jego dominacji nie zostały ostatecznie wyjaśnione. Prawdopodobnie jest ona związana ze wzrostem stabilności w środowisku oraz zwiększoną zakaźnością i zaraźliwością [3].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Elamri D.E, Aouni M., Parnaudeau S., Le Guyader F.S., 2006. Detection of human enteric viruses in shellfish collected in Tunisia. *Lett. Appl. Microbiol.*, 43, 399–404.
- [2] Gentry J., Vinjé J., Guadagnoli D., Lipp E.K., 2009. Norovirus distribution within an estuarine environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75, 5474–5480.
- [3] Friesema I., Vennema H., Heijne J., Jager de C., Teunis P., Linde van der R., Duizer E., Duynhoven van Y., 2009. Differences in clinical presentation between norovirus genotypes in nursing homes. *J. Clin. Virol.*, 46, 341–344.



## PCR – DIAGNOSTYKA BIAŁACZKI BYDŁA Z WYKORZYSTANIEM PRÓBEK MLEKA

## PCR – DIAGNOSTIC OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS USING MILK SAMPLES

Ruslan Bilyk, Olga Yakubchak

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Department Veterinary-Sanitarian Examination Kiev, Ukraine vul. Polkovnyka Potyekhina, 16 Ukraine: 03041, e-mail: olga.yakubchak@gmail.com., bill-rus@yandex.ua

Nowadays, according to existing legal acts of Ukraine, one of the basic methods of the bovine leukemia diagnostics in veterinary practice is a reaction of immunodiffusion (RID). This method is high specific with the middle index of sensitiveness. But a lot of authors argue its instability of indexes of RID and its insufficient sensitiveness [1–4]. The modern methods of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and polymerase chain reaction (PCR) in diagnostics of bovine leukemia have a row of advantages in a comparison to RID: more high exactness, sensitiveness and repetition of results, and also possibility to use for the analysis not only blood serum or plasma, but also other biological materials [5].

So, the aim of our work was an approbation and adaptation of the PCR-method in real time for the exposure of the bovine leukemia virus in the individual milk samples.

**Materials and research methods:** Work was conducted on the cows of blackly-pied breed in experimental farms of Kiev region in Ukraine. For our experiment blood samples 14 PCR-positive on the bovine leukemia cows on the different stages of lactation were selected. The individual samples of milk took away in non-permanent sterile glasses at the end of milking (alveolar milk).

Amplification of DNA-target was conducted on the device ABI PRISM SDS 7000 (Applied Biosystems). The results processing was done using software of ABI Prism 7000 software Vs. 1.2.3.

**Results of researches:** The results of milk and blood individual samples researching by PCR-method are presented in the table.

Table. The results of milk and blood samples comparative investigation by the PCR-method in real time

№ of sample	Ct of blood		Ct of milk	
	gp51(FAM)	PRP (JOE)	gp51(FAM)	PRP (JOE)
1	26,42	24,09	33,0	22,33
2	29,12	23,30	–	25,31
3	25,67	22,60	36,78	20,30
4	26,68	23,65	33,35	21,40
5	24,44	22,87	36,76	21,72
6	24,39	23,28	34,52	23,15
7	33,61	25,18	38,71	21,75
8	22,00	20,91	31,07	19,49
9	33,60	23,19	37,63	19,86
10	31,69	20,56	37,19	19,26
11	28,99	19,50	–	19,50
12	22,30	22,09	33,03	22,08
13	24,22	22,88	34,30	20,47
14	33,23	25,13	–	26,88

As presented in the Table, at 78 % tests of milk, got from PCR-positive on blood investigation at the bovine leukemia cows, exposed the presence of the bovine leukemia virus. For an increasing of PCR-method sensitiveness were increased the amount of cycles to 45, that make possible to get a reliable result.





## ZASTOSOWANIE METODY WESTERN-BLOTTING DO SEROLOGICZNEJ DIAGNOSTYKI NOSACIZNY

### USING WESTERN-BLOTTING METHOD FOR SEROLOGICAL DIAGNOSTICS OF GLANDERS

Sylwia Budniak, Agnieszka Kędrak-Jabłońska, Monika Reksa, Anna Szczawińska, Marek Krupa

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: sylwia.budniak@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Nosacizna jest zakaźną i zaraźliwą chorobą nieparzystokopytnych, którą wywołuje pałeczka nosacizny *Burkholderia mallei*. Zwierzęta mięsożerne i człowiek również są wrażliwe na zakażenie. Cechuje ją obecność łatwo rozpadających się guzków i owrzodzeń na błonach śluzowych, skórze i w narządach wewnętrznych. Nosacizna może przebiegać w postaci ostrej lub przewlekłej. Na ostrą postać nosacizny zapadają zwykle osły, muły, zwierzęta mięsożerne i człowiek. Konie zaś chorują w 90% przypadków na postać przewlekłą. Postać przewlekła nosacizny trwa miesiące, a nawet lata.

**Cel pracy:** Zastosowanie metody western-blotting do serologicznej diagnostyki nosacizny.

**Materiał i metody:** Do badań użyto sześć komercyjnych antygenów *B. mallei* oraz siedem komercyjnych surowic kontrolnych dodatnich. W analizach wykorzystano również surowicę otrzymaną z Wielkiej Brytanii, która dawała wynik dodatni w zatwierdzonym międzynarodowo badaniu serologicznym w kierunku nosacizny (odczyn wiązania dopełniacza – OWD). Do doświadczenia włączono także ujemną surowicę króliczą oraz ujemną surowicę końską. Rozdział elektroforetyczny antygenów prowadzono w żelach poliakrylamidowych o gradiencie 4–20% (SERVA). Żele barwiono srebrem. Transfer prowadzono przy stałym napięciu 100 V w komorze do elektrotransferu mokrego (omniPAGE Electrobloetter, Cleaver Scientific Ltd). Żele i obrazy immunoblottingu fotografowano oraz analizowano przy użyciu programu Bio-1D++ firmy Vilber Lourmat.

**Wyniki i omówienie:** Ustalono optymalne warunki przeprowadzania reakcji western-blotting z surowicami kontrolnymi dodatnimi i surowicami ujemnymi. Podjęto próbę wskazania frakcji antygenów reagujących specyficznie z surowicami zawierającymi przeciwciała anty-*B. mallei*. W reakcji western-blotting sześciu badanych antygenów z sześcioma surowicami kontrolnymi dodatnimi wykrywano od 15 do 23 pasm białkowych o różnych masach molekularnych. Profile elektroforetyczne immunoblottingów były wizualnie podobne. Dopiero analiza denzytometryczna pozwoliła na wykazanie pewnych różnic istniejących między antygenami i surowicami. W immunoblottingu z dwoma surowicami końskimi u badanych antygenów wykrywano od 11 do 21 pasm białkowych. W przypadku wszystkich antygenów w reakcji western-blotting z surowicami anty-*B. mallei* wykazano obecność frakcji białkowych w zakresie od 33 do 42 kDa oraz prążka o masie molekularnej 16 kDa. Obserwowano również prążki o układach charakterystycznych dla poszczególnych antygenów i surowic. Badane antygeny nie dawały reakcji w postaci prążków z surowicami ujemnymi. Następnie porównano czułość metody western-blotting z metodą OWD. W przypadku trzech surowic kontrolnych dodatnich, których miana deklarowane przez producenta wynosiły 1:320, 1:160 oraz 1:40, w immunoblottingu stwierdzono jednakowo wyraźnie widoczne prążki odpowiednio do rozcieńczenia 1:640, 1:320 oraz 1:160. W dalszych rozcieńczeniach występowało mniej prążków, które wykazywały mniejszą intensywność. Ujemne surowice nie dawały reakcji w postaci prążków w żadnym z badanych rozcieńczeń. Wykazano wyższą czułość metody western-blotting w porównaniu z metodą OWD.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Katz J.B., Chieves L.P., Hennager S.G., Nicholson J.M., Fisher T.A., Byers P.E., 1999. Serodiagnosis of equine piroplasmiasis, dourine, and glanders using an arrayed immunoblotting method, *J. Vet. Diagn. Invest.*, 11, 292–294.
- [2] Elschner M.C., Scholz H.C., Melzer F., Saquib M., Marten P., Rassbach A., Dietzsch M., Schmoock G., de Assis Santana V.L., de Souza M.M.A., Wernery R., Wernery U., Neubauer H., 2011. Use of Western blot technique for the serodiagnosis of glanders, *BMC Vet. Res.*, 7:4.



## WPŁYW ZASTOSOWANIA BIOAKTYWNYCH SUBSTANCJI Z JAJ NA JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNĄ PRZECHOWYWANEGO MIĘSA ŚWINIODZIKÓW

### THE EFFECT OF USING BIOACTIVE SUBSTANCES FROM EGGS ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF STORED MEAT OF HYBRIDS DOMESTIC PIGS AND WILD BOAR

Justyna Górecka<sup>1</sup>, Adam Malicki<sup>2</sup>, Tadeusz Szmańko<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <sup>1</sup>Wydział Nauk o Żywności, Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością, ul. Chełmońskiego 37-41, 51-630 Wrocław, justyna.gorecka@gmail.com

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <sup>2</sup>Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Konsumenta, ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław

Dziczyna ze względu na specyficzne warunki pozyskania i obróbki wstępnej zwierząt dzikich, prowadzonej w miejscu odstrzału zwierzyny (na łowisku), niewłaściwe warunki wychładzania jest surowcem szczególnie narażonym na szybką utratę świeżości, pogorszenie wyróżników sensorycznych, technologicznych i mikrobiologicznych. Z doniesień literaturowych wynika, że zwiększenie trwałości dziczyny opierające się na modyfikacji technologii jej pakowania i przechowywania nie gwarantuje oczekiwanych rezultatów. Dlatego też, uwzględniając ekologiczne znamiona tego surowca, w celu zwiększenia trwałości dziczyny, podjęto próbę oceny możliwości zastosowania bioaktywnych preparatów naturalnego pochodzenia, wydzielonych z treści jaj na powierzchnię mięsa świniodzików.

**Materiał i metody:** Materiałem doświadczalnym był mięsień *longissimum dorsi* świniodzików, utrwalony eksperymentalną substancją biologicznie aktywną wyizolowaną z jaj, przechowywany w temp.  $3\pm 1^{\circ}\text{C}$  przez 0, 14, 21 i 28 dób. Grupy odniesienia stanowiły próby nietraktowane substancją bakteriostatyczną, przechowywane w temp.  $3\pm 1^{\circ}\text{C}$  i  $-3\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Surowiec pochodził od 10 osobników o masie tusz w skórze około 40–45 kg. W celu zwiększenia trwałości doświadczalnych elementów zastosowano na 3 poziomach, suszony rozpyłowo techniczny preparat inhibitorowo-lizozymowy. Preparat nanoszono na powierzchnię mięśni w sposób gwarantujący równomierne jego rozprowadzenie, a także uniemożliwiający wystąpienie krzyżowego zakażenia mikrobiologicznego prób. Po eksperymentalnym okresie przechowywania surowca oraz na mięsie nieprzechowywanym przeprowadzono oznaczenia mikrobiologiczne zgodnie z obowiązującymi normami w kierunku: ogólnej liczby drobnoustrojów, bakterii z grupy coli, *Escherichia coli*, koagulododatnich *Staphylococcus* spp., bakterii fermentacji mlekowej, bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, pałeczek z rodzaju *Salmonella*, beztlenowych laseczek przetrwalnikujących, *Listeria monocytogenes* oraz drożdży i pleśni.

**Wyniki i omówienie:** W mięsie nieprzechowywanym ogólna liczba drobnoustrojów została oznaczona na poziomie  $5\cdot 10$  jtk/g, natomiast po 28 dobach w przypadku prób traktowanych substancją bakteriostatyczną od  $1,2\cdot 10^3$  do  $1,6\cdot 10^3$  jtk/g, a dla prób składowanych w stanie głębokiego schłodzenia wynosiła  $1,4\cdot 10^2$  jtk/g. Przez cały okres prowadzenia badań w mięsie świniodzików nie stwierdzono obecności koagulododatnich *Staphylococcus* spp., beztlenowych laseczek przetrwalnikujących, pałeczek z rodzaju *Salmonella*, *Escherichia coli* oraz *Listeria monocytogenes*. Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że wykorzystanie substancji biologicznie aktywnej z jaj w postaci technicznego preparatu inhibitorowo-lizozymowego na powierzchnię mięśni najdłuższego grzbietu świniodzików nie skutkowało zwiększeniem ich trwałości. Zaobserwowano natomiast pozytywny wpływ przechowywania tego surowca w temperaturze bliskiej krioskopowej.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Gill C.O., 2007. Microbiological conditions of meats from large game animals and birds. *Meat Sciences*, 77:2, 149–160.
- [2] Korenekova B., Korenek M., 2008. Factors influenced on safety on quality. *Meso*, 10, 389–393.

*Badania wykonano podczas realizacji projektu nr POIG.01.03.01-00-133/08- pt. „Innowacyjne technologie produkcji biopreparatów na bazie nowej generacji jaj (OVOCURA)”. Projekt współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego realizowany w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007–2013.*



## NIEPRAWIDŁOWE NAWYKI ŻYWIENIOWE A ZDOLNOŚĆ ROZPOZNAWANIA PODSTAWOWYCH SMAKÓW PRZEZ STUDENTÓW MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

### ABNORMAL DIETARY HABITS VERSUS ABILITY TO RECOGNIZE BASIC TASTES BY THE STUDENTS OF VETERINARY MEDICINE

Małgorzata Gomółka-Pawlicka, Jan Uradziński, Alicja Migowska-Calik

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn, e-mail: mag@uwm.edu.pl

Wrażliwość sensoryczna człowieka jest wypadkową wielu czynników, z których niektóre są zmienne i w znacznej mierze zależą od prowadzonego stylu życia. Zawód lekarza weterynarii, szczególnie specjalizacja związana z szeroko rozumianą higieną produkcji środków spożywczych, stawia przed współczesnym lekarzem również wymagania dotyczące odpowiedniej kondycji jego zmysłów.

Cel badań: Określenie zdolności rozpoznawania podstawowych smaków przez studentów Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

**Materiał i metody:** Prowadzone w ostatnich latach badania, dla uchwycenia wpływu różnych czynników na zdolność rozpoznawania podstawowych smaków, obejmowały dużą grupę studentów V i VI roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w wieku 23–27 lat. Łącznie zbadano 1240 osób, z czego 710 stanowiły kobiety i 530 mężczyźni. Przed rozpoczęciem badań studentów przeszkolono odnośnie celu i metod prowadzenia badań, właściwego przygotowania się do testów sensorycznych i poproszono o wypełnienie indywidualnych ankiet, dostarczających szczegółowych informacji dotyczących uczestników badania (wiek, płeć, wzrost, masa ciała, preferencji smakowe, nawyki żywieniowe, diety, aktywność fizyczna, stanu zdrowia, przyjmowane leki, stosowane używki itp.). Badania zostały wykonane w warunkach sprzyjających maksymalnej koncentracji uwagi i zmysłów, tj. w pracowni sensorycznej, urządzonej zgodnie z wytycznymi zawartymi w PN ISO 8589 [2]. Przeprowadzono je zgodnie z zasadami wymienionymi w PN ISO 3972 [1] Analiza sensoryczna. Metodologia. Metoda sprawdzania wrażliwości smakowej. Test polegał na rozpoznaniu smaku 10 płynnych próbek, oznaczonych trzycyfrowym kodem, zawierających odpowiednio stężone roztwory obejmujące podstawowe smaki (kwaśny, słony, słodki, gorzki, umami i metaliczny) oraz wodę. Woda służąca przepłukiwaniu ust była identyczna z wodą użytą do przygotowania roztworów smakowych. Oceny dokonywano bez pośpiechu, pobierając jednorazowo ilość roztworu umożliwiającą wypełnienie całej jamy ustnej (>15 ml). Osoby poddane badaniom uczestniczyły w testach dwukrotnie, w odstępie od 4 do 8 tygodni.

**Wyniki i omówienie:** Wyniki badań uzyskane przy pierwszym zetknięciu z testem sensorycznym wskazują, że ok. 46% badanych (570 osób) rozpoznało prawidłowo więcej niż połowę (od 6 do 10) próbek smakowych, przy czym tylko 3,9% badanych (48 osób) rozpoznało prawidłowo wszystkie próbki. Pozostałe 54% badanych (670 osób) uzyskało wyniki na poziomie 0–5 prawidłowych rozpoznań. Na podstawie szczegółowej analizy danych zawartych w indywidualnych ankietach zauważono, że największy wpływ na niską liczbę prawidłowych rozpoznań roztworów smakowych miały nieprawidłowe nawyki żywieniowe badanych osób. Grupę badanych, którzy uzyskali najgorsze wyniki w teście (od 0 do 2 prawidłowych rozpoznań), aż w 94% stanowiły osoby, które określiły się mianem: „zupełnie nieprzywiązujących wagi do zasad prawidłowego odżywiania”. Osoby te w 88% przypadków cechowała znaczna nadwaga. Prawidłowość ta była silniej wyrażona u kobiet niż u mężczyzn. Wyniki powtórnych testów sensorycznych przeprowadzonych po 4–8 tygodniach wykazały, że u osób które zmieniły sposób odżywiania na bardziej racjonalny (regularne posiłki, urozmaicona dieta, brak „podjadania” między posiłkami), nastąpił znaczny wzrost liczby prawidłowych rozpoznań w stosunku do wyników uzyskanych podczas pierwszego testu.

#### Piśmiennictwo:

[1] PN-ISO 3972:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Metoda sprawdzania wrażliwości smakowej.

[2] PN-ISO 8589:1998. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne projektowania pracowni analizy sensorycznej.



## STOSOWANIE WYBRANYCH UŻYWEK A WRAŻLIWOŚĆ NA SMAK SŁONY U STUDENTÓW MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ

### THE USE OF SELECTED STIMULANTS VERSUS SENSITIVITY TO SALT TASTE IN THE STUDENTS OF VETERINARY MEDICINE

Małgorzata Gomółka-Pawlicka, Patrycja Grała, Jan Uradziński

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn, e-mail: mag@uwm.edu.pl

Wrażliwość sensoryczna, rozumiana jako zdolność odczuwania, identyfikowania lub rozróżniania jakościowego jednego lub kilku bodźców, jest cechą osobniczą uzależnioną od wielu czynników subiektywnych i obiektywnych. Wrażliwość smakowa na poszczególne smaki jest różnie rozwinięta u różnych osób i w każdym przypadku należy ją traktować bardzo indywidualnie.

**Cel badań:** Określenie zdolności rozpoznawania smaku słonego oraz ustalenie progów wrażliwości na ten smak u badanych osób i określenie w jakim stopniu stosowanie używek takich jak: alkohol, palenie tytoniu czy marihuany wpływają na wrażliwość smakową na ten smak.

**Materiał i metody:** W badaniach wzięło udział 135 osób w wieku od 21 do 27 lat, będących studentami V i VI roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, z czego 78 osób stanowiły kobiety, a mężczyźni 57. Przed przystąpieniem do badań studenci zostali poinformowani odnośnie celu i metody badań, a także wypełniali indywidualne ankiety, dostarczające szczegółowych informacji dotyczących preferencji smakowych, stosowanej diety, aktywności fizycznej, stanu zdrowia, przyjmowanych leków, rodzaju i częstotliwości stosowania wszelkiego rodzaju używek, uzależnień od środków psychoaktywnych itp. Badania wykonano w pracowni sensorycznej, urządzonej zgodnie z wytycznymi zawartymi w PN ISO 8589 [2]. Przeprowadzono je zgodnie z zasadami wymienionymi w PN ISO 3972 [2] Analiza sensoryczna. Metodologia. Metoda sprawdzania wrażliwości smakowej. Test polegał na rozpoznaniu smaku 11 roztworów bezwodnego chlorku sodu, ustawionych w szeregu o stężeniu wzrastającym w stosunku geometrycznym  $R=0,7$  (od 0,16 do 2,0g/l). Woda służąca przepłukiwaniu ust była identyczna z wodą użytą do przygotowania roztworów smaku słonego. Oceny dokonano bez pośpiechu, pobierając jednorazowo ilość roztworu umożliwiającą wypełnienie całej jamy ustnej. Każdą z próbek smakowych wchodzących w skład zestawu oznaczono trzycyfrowym kodem.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki badań wskazują, że zdolność rozpoznawania smaku słonego była lepiej rozwinięta u mężczyzn niż u kobiet. Wyniki badań uzyskane w grupie mężczyzn palących i niepalących papierosy kształtowały się na zbliżonym poziomie. Natomiast u kobiet niepalących zdolność rozpoznawania smaku słonego była wyższa niż w grupie kobiet palących papierosy. Sporadyczne palenie marihuany, bez względu na płeć badanych, nie było czynnikiem wpływającym znacząco na zdolność rozpoznawania smaku słonego, ale wpływało na podwyższenie progu wrażliwości na ten smak; natomiast jej częstsze stosowanie upośledzało zdolność rozpoznawania tego smaku. W grupie osób pijących często alkohol, zarówno u badanych kobiet, jak i mężczyzn, odnotowano zdecydowany wpływ tego czynnika na podwyższenie progu wrażliwości na smak słony, a także na zdolność rozpoznawania tego smaku. Uzyskane wyniki badań składają się do konkluzji, że częste stosowanie wymienionych używek, pomimo młodego wieku badanych, wpływa niekorzystnie na ich wrażliwość na smak słony poprzez znaczne podwyższenie progów wrażliwości na ten smak, po utratę zdolności jego rozpoznawania włącznie. Zauważono też, że prawidłowość ta jest nieco silniej wyrażona u badanych kobiet niż u mężczyzn.

#### Piśmiennictwo:

- [1] PN-ISO 3972:1998. Analiza sensoryczna. Metodologia. Metoda sprawdzania wrażliwości smakowej.
- [2] PN-ISO 8589:1998. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne projektowania pracowni analizy sensorycznej.





## WPŁYW KARMIEŃIA KURCZAKÓW-BROJLERÓW NANOKOMPOZYTAMI NA WSKAŹNIKI JAKOŚCIOWE MIĘSA

### INFLUENCE OF FEEDING CHICKEN BROILERS ON NANOCOMPOSITES UPON MEAT QUALITATIVE INDICES

Olga Yakubchak, Lesya Busol, Ruslan Bilyk

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Department Veterinary-Sanitarian Examination Kiev, Ukraine vul. Polkovnyka Potyekhina, 16 Ukraine: 03041  
e-mail: olga.yakubchak@gmail.com., bill-rus@yandex.ua

Active development of nanotechnology and special attention to them a large number of scientists of different spheres of activity, as well as government officials in many countries is due to a number of scientific discoveries in physics, chemistry and molecular biology.

It should be emphasized that the problem of toxicity and biocompatibility of biogenic metals (Fe, Cu, Co, Mn, Mg, Zn, Mo) can be solved if trace elements are not used in the ionic or atomic (molecular), and in a state of nanoparticles. Studies have shown that the toxicity of metal nanoparticles is much lower than toxicity of metal ions obtained with using salts. The toxicity of iron is lower in 40 times, copper – in 7 times and zinc – in 30 times. In addition, the biocide properties of metal nanoparticles are significantly expressed towards pathogens and unlike ions of the same metals show no toxicity to mammals [1].

In livestock and poultry metal nanoparticles are used when making new feeds. Usage of these feeds helps to increase the productivity of animals in the 1.5 – 3 times, the growth rate and resistance to stress and infection (reduced deaths in 2 times) [2, 3].

The aim of our work was to evaluate the organoleptic, chemical, and bacterioscopic indices of broiler chicken meat grown with the use of nanotechnology.

**Material and methods of study:** Studies conducted in 2008 at the Department of veterinary-sanitary examination of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. We determined the organoleptic characteristics, moisturelinking ability of broiler chicken meat, the pH, the enzyme activity of peroxidase, the presence of ammonia and ammonium salts, decomposition products of proteins in the broth using  $\text{CuSO}_4$  [4, 5]. There was also held tasting broth and evaluation of the quality of broiler chicken meat using standard techniques according to current Ukrainian laws and regulations [6, 7].

In studies meat of broiler chickens (cross "Hubbert") was used. The bird was kept in similar conditions of vivarium at the Department of organization, economics and marketing in veterinary medicine from 4 to 36-day-old. Chicken Broilers of control, I and III experimental groups were fed ad libitum with combined feed for appropriate age groups, and the experimental group II was fed with similar combined feed and 1 mg of ultrafine iron in 1 kg of feed. During the experiment the bird was watered day and night ad libitum: control and experimental group II – with tap water, the I-st experimental group – with the solution of the nanocomposite produced by LLC "Nanomaterials and Nanotechnologies" according to TU U 24.6-35291116-001:2007 in distilled water, chicken broilers of the III-d experimental group – with solution of fullerenes in apyrogenic water.

Organoleptic, chemical and bacterioscopic indices were examined in 4 groups of broiler chickens (5 carcasses in each group).

#### Conclusions

1. According to the organoleptic evaluation of broiler chickens meat, it was normal in appearance, color of carcasses and visible mucous membranes, the state of muscles, their consistency and smell of a carcass of broiler chickens. However, broth from the control and experimental group III showed a questionable freshness.

2. Microscopic examination in the field of view of the microscope revealed rods and cocci, the maximum amount are not exceeding the permissible standards. In the I-st group were identified isolated diplococci, but the total number of microorganisms in the field of view does not exceed 10. None of the groups studied revealed signs of disintegration of muscle tissue, which characterizes the freshness of meat.





3. The results of the taste assessment indicate that meat and broth, obtained from the control group had the lowest levels: 3.33 and 3.0 points respectively, in the I-st experimental group average quality of the broth and the meat was 4.83 points; in the II-nd group – 4.5 points for the quality of the broth and 5.0 points – for the quality of meat. In experimental group III indices were 4.0 points for the quality of meat and broth.

4. In terms of moisturelinking ability of meat control group had a mean moisturelinking ability, all samples of broiler chicken meat of experimental groups (I – III) had extremely low moisturelinking ability.

#### **References:**

- [1] Применение препаратов серебра в медицине: Сборник трудов по материалам научно-практической конференции „Новые химические системы и процессы в медицине”/ Под ред. Е. М. Блажитко. Новосибирск, 2004 – 115 с.



## AKTUALNE DANE EPIDEMIOLOGICZNE BRUCELOZY BYDŁA I ŚWIŃ W POLSCE

### CURRENT EPIDEMIOLOGICAL SITUATION OF BOVINE AND PORCINE BRUCELLOSIS IN POLAND

Wojciech Iwaniak, Krzysztof Szulowski, Marcin Weiner, Jolanta Złotnicka

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: iwaniakw@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Brucelozą to groźna zoonoza mająca duże znaczenie ekonomiczne i epidemiologiczne. Wywołują ją bakterie rodzaju *Brucella*, w obrębie którego wyróżnia się 6 podstawowych gatunków mających wśród zwierząt swoich głównych żywicieli: *B. abortus* (bydło), *B. melitensis* (kozy, owce), *B. suis* (świnie), *B. canis* (psy), *B. ovis* (owce) i *B. neotomae* (szczur pustynny). W ostatnich latach wyodrębniono również kolejne gatunki: *B. ceti* i *B. pinnipedialis* (ssaki morskie), *B. microti* (gryzonie) oraz *B. inopinata* (implant piersi). Zmiany chorobowe u zwierząt dotyczą głównie narządów rozrodczych prowadząc do ronień i niepłodności. Często dochodzi do zatrzymania łożyska i zapalenia macicy. U samców objawem brucelozy jest najczęściej zapalenie jąder i najądrzy. Typowe dla brucelozy są również zapalenia stawów, najczęściej stawów kończyn. Brucelle, szczególnie *B. suis*, cechuje też osteotropizm, przez co proces chorobowy umiejscawia się w kościach, a następnie stawach kończyn i kręgosłupa, prowadząc do kulawizn, porażen i obrzęków. W wielu przypadkach brucelozą ma charakter bezobjawowy.

**Cel pracy:** Przedstawienie aktualnych danych epidemiologicznych brucelozy bydła i świń w Polsce.

**Materiał i metody:** Diagnostyka brucelozy, ze względu na skalę badań, opiera się przede wszystkim na badaniach serologicznych. Polegają one na stwierdzeniu obecności specyficznych przeciwciał w organizmie zwierzęcia indukowanych przez drobnoustroje *Brucella*. W Polsce, w odniesieniu do bydła, znajdują zastosowanie – na poziomie Krajowego Laboratorium Referencyjnego Brucelozy (KLRB) – odczyn kwaśnej aglutynacji płytowej (OKAP), odczyn aglutynacji probówkowej (OA), odczyn wiązania dopełniacza (OWD), odczyn antyglobulinowy Coombsa (OAG), odczyn z 2-merkaptanoetylem (OME) i ELISA. W odniesieniu do świń stosuje się: OKAP i ELISA, a w przypadkach trudnych do zdiagnozowania dodatkowo OWD, OA i OME. Materiał od zwierząt, których surowice reagowały dodatnio w badaniach serologicznych, poddany zostaje każdorazowo w KLRB badaniu bakteriologicznemu w kierunku izolacji i identyfikacji drobnoustrojów *Brucella*. Posiewów materiału dokonuje się na pożywce stałej – agarze z glukozą i surowicą oraz dodatkiem selektywnym (SDA+SS) i pożywce płynnej – bulionie z glukozą i surowicą oraz dodatkiem selektywnym (SDB+SS).

**Wyniki i omówienie:** Analizie poddano wyniki badań z bydła i świń w latach 2006–2010. W przypadku bydła w poszczególnych latach uzyskiwano od 12–34 wyników serologicznych, które zakwalifikowano jako dodatnie. W badaniu bakteriologicznym materiału pochodzącego od tych zwierząt ani razu nie izolowano *B. abortus*. W przypadku świń, w odniesieniu do rodzimego pogłowia, corocznie obserwowano dodatnie wyniki w OKAP (7–137 przypadków), ale po wykonaniu badań innymi metodami określano je jako reakcje niespecyficzne. W 2008 r. stwierdzono natomiast brucelozę u świń importowanych z Hiszpanii. W partii 23 knurów, po uprzednim dodatnim wyniku badania serologicznego, od 7 zwierząt izolowano pałeczki *Brucella suis* biotyp 2. Na tle innych krajów europejskich sytuację epidemiologiczną brucelozy bydła i świń w Polsce należy określić jako dobrą.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Szulowski K., Iwaniak W., Weiner M., Złotnicka J., Szymajda M., Zaręba Z., Czępińska H., 2011. Diagnostyka i sytuacja epidemiologiczna brucelozy świń w Polsce. *Życie Wet.*, 86, 368–370.
- [2] Szulowski K., Iwaniak W., Weiner M., Złotnicka J., Szymajda M., Zaręba Z., Czępińska H., 2012. Diagnostyka i sytuacja epidemiologiczna brucelozy bydła w Polsce. *Med. Wet.*, 68, 110–113.



## IDENTYFIKACJA SZCZEPÓW *BACILLUS ANTHRACIS* METODĄ REAL-TIME PCR OPARTĄ NA FLUORESCENCJI BARWNIKA SYBR GREEN I

### IDENTIFICATION OF *BACILLUS ANTHRACIS* BY REAL-TIME PCR METHOD WITH INTERCALATING DYE SYBR GREEN I

Agnieszka Kędrak-Jabłońska, Sylwia Budniak

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: akedrak@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Wąglik jest chorobą zakaźną wywoływaną przez laseczkę wąglika *Bacillus anthracis*. Choroba występuje najczęściej u zwierząt roślinożernych, rzadziej u wszystkożernych i mięsożernych oraz u ludzi. Jedną z metod biologii molekularnej stosowaną w diagnostyce genetycznej *B. anthracis* jest Real-time PCR. Dzięki swoistym starterom możliwe jest wykrycie genu *B. anthracis* zlokalizowanego w DNA plazmidu pXO1 tj. *pag*. W plazmidzie pXO2 zlokalizowane są sekwencje genu *cap*. Wykazanie u *B. anthracis* obecności dwu plazmidów ma nie tylko wartość diagnostyczną, ale także wskazuje na wirulencję badanego szczepu.

**Cel pracy:** Zastosowanie metody Real-time PCR z barwnikiem interkalującym SYBR Green I do wykrywania markerów wirulencji oraz specyficznej sekwencji chromosomalnej *rpoB*.

**Materiał i metody:** Do badań użyto 21 szczepów *B. anthracis*, w tym 4 szczepy szczepionkowe i 17 krajowych szczepów terenowych wyizolowanych w latach 1947–1996. Do doświadczenia włączono również izolaty innych gatunków rodzaju *Bacillus*, tj. 2 szczepy *B. cereus*, *B. brevis*, *B. subtilis* i *B. megaterium*. Wszystkie szczepy użyte do badań pochodziły z kolekcji drobnoustrojów Zakładu Mikrobiologii PIWet-PIB. Izolację DNA przeprowadzono przy użyciu zestawu Genomic Mini firmy A&A Biotechnology, Gdynia, Polska. Opierając się na danych z piśmiennictwa, wybrano sekwencje starterów do amplifikacji [1]. Do badań użyto zestawu QuantiTect SYBR Green PCR Kit (Qiagen). W reakcjach wykorzystano aparat Mx3005P® (Stratagene) oraz oprogramowanie MxPro – Mx3005P v3.20.

**Wyniki i omówienie:** W przypadku testu Real-time PCR na obecność sekwencji chromosomalnej *rpoB* uzyskano wartości Ct, które wahały się w granicach od 12,74 do 29,97. U wszystkich szczepów *B. anthracis* wykrywano sekwencję chromosomalną *rpoB*. Swoistość amplifikacji potwierdzono, określając temperaturę topnienia produktu PCR, która wynosiła 78°C. Oznaczono również czułość reakcji na poziomie 500 fg/reakcję. Ocena specyficzności testu wykazała, że uzyskano produkty specyficzne dla *B. anthracis* oraz 2 szczepów *B. cereus*. Dzieje się tak z powodu bliskiego pokrewieństwa genetycznego tych gatunków. Izolaty innych gatunków drobnoustrojów nie wykazały obecności produktów reakcji PCR. Następnie na podstawie obserwacji krzywych amplifikacji w reakcji polimeryzacji łańcuchowej stwierdzono obecność genu *pag* zlokalizowanego w DNA plazmidu pXO1. Uzyskane wartości Ct wahały się w granicach 13,41–22,48. Dwa szczepy szczepionkowe (BS2, BS3) oraz 1 szczep terenowy (BA7/51) nie wykazywały obecności produktów reakcji. Swoistość amplifikacji potwierdzono, określając temperaturę topnienia produktu PCR (79°C). Czułość reakcji określono na poziomie 5 pg/reakcję. W przypadku wykrycia genu *cap-C* *B. anthracis* uzyskane wartości Ct wynosiły 10,68–29,14. U szczepów BS1, BS3 oraz BA13/93 nie stwierdzono produktu reakcji Real-time PCR. Specyficzne produkty amplifikacji dysocjują w temperaturze 76°C. Wykazano, że czułość wynosiła 50 pg/reakcję. Zastosowanie metody Real-time PCR opartej na fluorescencji barwnika SYBR Green I pozwoliło na wykrycie wszystkich badanych genów na podstawie obserwacji krzywych amplifikacji. W przypadku gdy zastosowano zestawy starterów swoistych dla genu *pag* oraz genu *cap-C*, izolaty różnych gatunków rodzaju *Bacillus* oraz szczepy sześciu innych drobnoustrojów nie wykazały obecności produktów reakcji PCR.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Ellerbrok H., Nettermann H., Özel M., Beutin L., Appel B., Pauli G., 2002. Rapid and sensitive identification of pathogenic and apathogenic *Bacillus anthracis* by real-time PCR. FEMS Microbiol. Lett., 214, 51–59.



## ZASTOSOWANIE MULTIPLEX REAL-TIME PCR DO WYKRYWANIA SZCZEPÓW *BACILLUS ANTHRACIS*

### USING MULTIPLEX REAL-TIME PCR FOR DETECTION OF THE STRAINS OF *BACILLUS ANTHRACIS*

Agnieszka Kędrak-Jabłońska, Sylwia Budniak

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: akedrak@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** *Bacillus anthracis* jest Gram-dodatnią laseczką wytwarzającą w środowisku zewnętrznym, przy dostępie tlenu, przetrwalniki. Endospory są bardzo odporne na niesprzyjające warunki środowiska i są w stanie przetrwać w glebie nawet kilkadziesiąt lat. *B. anthracis* wywołuje zakaźną chorobę zwaną wąglikiem. Szczególnie wrażliwe na zachorowanie są zwierzęta roślinożerne, rzadziej występuje u wszystkożernych, mięsożernych oraz u ludzi. U człowieka, w zależności od drogi zakażenia, wąglik może przebiegać w trzech postaciach: skórnej, płucnej oraz jelitowej. Stosowane w laboratoriach konwencjonalne testy PCR oraz Real-time PCR stanowią wartościowe narzędzie diagnostyczne. Zastosowanie Real-time PCR przynosi rozwiązanie większości problemów istniejących w klasycznej metodzie PCR. Wykorzystanie sond TaqMan umożliwia przeprowadzenie reakcji multiplex Real-time PCR co dodatkowo pozwala na skrócenie czasu identyfikacji.

**Cel pracy:** Opracowanie reakcji multiplex Real-time PCR pozwalającej na równoczesną amplifikację i wykrywanie markera wirulencji – genu *pag* oraz specyficznej sekwencji chromosomalnej.

**Materiał i metody:** Do badań użyto 21 szczepów *B. anthracis*, w tym 4 szczepy szczepionkowe i 17 krajowych szczepów terenowych wyizolowanych w latach 1947–1996. Do doświadczenia włączono również izolaty innych gatunków rodzaju *Bacillus*, tj. 2 szczepy *B. cereus*, *B. brevis*, *B. subtilis* i *B. megaterium*. Wszystkie szczepy użyte do badań pochodziły z kolekcji drobnoustrojów Zakładu Mikrobiologii PIWet-PIB. Izolację DNA przeprowadzono przy użyciu zestawu Genomic Mini firmy A&A Biotechnology, Gdynia, Polska. Opierając się na danych z piśmiennictwa, wybrano sekwencje starterów i sond do amplifikacji [1]. Do badań użyto zestawu QuantiTect Probe PCR Kit (Qiagen). W reakcjach wykorzystywano aparat Mx3005P® (Stratagene) oraz oprogramowanie MxPro – Mx3005P v3.20.

**Wyniki i omówienie:** W przypadku reakcji multiplex Real-time PCR pozwalającej na równoczesną amplifikację i wykrywanie genu *pag* oraz specyficznej sekwencji chromosomalnej *rpoB* uzyskane wartości Ct wynosiły 19,72–32,07 dla genu *pag* oraz od 19,09 do 32,94 dla genu *rpoB*. Stwierdzono, że izolaty BS2, BS3 oraz BA7/51 mają sekwencję chromosomalną, natomiast nie wykryto u nich genu zlokalizowanego w DNA plazmidu pXO1. Czulość reakcji określono na poziomie 50 fg/reakcję. Współczynnik korelacji określający zależność między ilością DNA w ng wyrażoną w skali logarytmicznej i wartością Ct wynosił 0,999. Ocena specyficzności testu w przypadku reakcji multiplex z równoczesnym zastosowaniem sondy *rpoB*-TM i PA-BHQ wykazała dużą specyficzność reakcji. Uzyskano produkty specyficzne dla *B. anthracis*. Izolaty różnych gatunków rodzaju *Bacillus* oraz szczepy sześciu innych drobnoustrojów nie wykazały obecności produktów reakcji PCR. Podsumowując, zastosowanie metody Real-time PCR opartej na wykorzystaniu nukleolitycznych sond typu TaqMan do wykrywania markera wirulencji *Bacillus anthracis* – genu *pag* oraz specyficznej sekwencji chromosomalnej *rpoB* pozwoliło na wykrycie wszystkich badanych genów na podstawie obserwacji krzywych amplifikacji. Wykazano, że test multiplex Real-time PCR charakteryzował się wysoką czulością i specyficznością.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Ellerbrok H., Nettermann H., Özel M., Beutin L., Appel B., Pauli G., 2002. Rapid and sensitive identification of pathogenic and apathogenic *Bacillus anthracis* by real-time PCR. FEMS Microbiol. Lett. 2002, 214, 51–59.



## TOPOGRAPHY AND MORPHOLOGY OF MECKEL'S DIVERTICULUM IN DUCKS AT EARLY STAGES OF POSTNATAL PERIOD OF ONTOGENESIS

### ТОПОГРАФІА І МОРФОЛОГІА УХЫЛКА МЕККЕЛ У КАЦZEK НА WCZESNYCH ETAPACH ONTOGENEZY W OKRESIE POPORODOWYM

Volodymyr Khomych, Tetiana Mazurkevych, Svitlana Usenko

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Department of Histology, Cytology and Embryology, Polkovnyk Potyehin str., 16, Kiev, 03041, Ukraine:  
e-mail: gistology\_chair@twin.nauu.ua; mazur@faust.kiev.ua

The Meckel's diverticulum (MD) that is well developed in birds is attributed to the peripheral organs of immunogenesis. It is known that he is formed from the channel of vitelline sack, which connects its lumen with the lumen of jejunum [I. Olah, B. Glick, 1984].

The aim of researches was to learn a topography and morphology of MD of ducks on the early stages of postnatal period of ontogenesis.

**Material and methods of researches:** Material for researches was taken away from 30 broiler ducks of Blagovarsky cross in age 1, 5, 10, 15 and a 20 day. The standard methods of morphological researches used at work doing [Автандилов Г.Г., 1990; Горальський Л.П. та ін., 2005].

**Results of researches:** MD is located in the thoracoabdominal lumen of ducks on the antimesenteric surface of jejunum and the apex is direct cranially. It occupies permanent position in a small intestine and is on a few centimetres of more caudally from its middle. MD of ducks is similar to tube with the narrowed apex. Remains of vitelline sack with contents can be found on the last one. The diameter of middle part and length of MD change with the increase of age of ducks.

The microstructure of MD wall of ducks is similar such the walls of jejunum. That is consists of a tunica mucosa, tunica muscularis and tunica serosa. A tunica mucosa is formed by an epithelium, lamina propria mucosae and submucosa. Lamina muscularis mucosae we did not defined in it. The tunica muscularis formed by smooth muscle tissue, the bundles of cells formed a well expressed inner circular layer and a poorly developed outer longitudinal layer. The tunica serosa of diverticulum formed by loose connecting tissue and covered mesothelium. Tela subserosa in it is not expressed. The tunica serosa of MD passes to the tunica serosa of jejunum.

As known, lymphoid tissue (LT) that provides the function of peripheral organs of immunogenesis has four levels of structural organization: the diffuse lymphoid tissue, the prenODULES form, primary and secondary lymphoid nodules, develop in the brought sequence over [М.Р. Сапин, Л.Е. Этинген, 1996].

Only diffuse LT in MD is defining at one-day-old and 5-day-old ducks. The prenodule form except a diffuse form find at 10-day-old bird. Primary lymphoid nodules, except the adopted forms, appear from 15-day' age, and secondary lymphoid nodules are from 20-day's age. All levels of the structural organization of lymphoid tissue are presented in a Meckel's diverticulum wall of ducks at 20-day-old ducks. It confirms a full morpho-functional maturity of lymphoid tissue and, accordingly maturity of diverticulum as peripheral organ of immunogenesis.

Area that is occupied by LT in the tunica mucosa of MD increases with age of ducks (Table).

Area of lymphoid tissue and its forms in the tunica mucosa of Meckel's diverticulum, %

Age, day	Lymphoid tissue	Diffuse lymphoid tissue	Prenodules form	Primary lymphoid nodules	Secondary lymphoid nodules
1	52,15±0,09	100	–	–	–
5	52,92±0,11	100	–	–	–
10	53,23±0,39	95,66±0,26	4,34±0,26	–	–
15	58,77±0,07	89,20±0,05	8,41±0,05	2,39±0,04	–
20	59,88±0,29	84,74±0,15	7,14±0,13	6,88±0,16	1,23±0,06

It is necessary to mark, that the lymphoid tissue is defined not only in tunica mucosa, but also in a tunica muscularis of MD, since 15-daily age of ducks.





## PRZYDATNOŚĆ SYSTEMU MGIT W DIAGNOSTYCE GRUŻLICY BYDŁĘCEJ

### MGIT SYSTEM USEFULNESS IN THE DIAGNOSIS OF BOVINE TUBERCULOSIS

Monika Krajewska, Marek Lipiec

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: monika.krajewska@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Zadaniem Krajowych Laboratoriów Referencyjnych jest szybkie i prawidłowe diagnozowanie w kierunku określonych jednostek chorobowych i w ślad za tym podjęcie właściwych procedur, zgodnie z Instrukcją Głównego Lekarza Weterynarii. Ze względu na niebezpieczeństwo dla człowieka szczególne znaczenie ma szybka i prawidłowa diagnostyka w laboratoriach prątków. Szybka izolacja i identyfikacja ogniska choroby zapobiega transmisji zarazki w środowisku. Nowoczesne laboratorium powinno w możliwie jak najkrótszym czasie wykonać badanie bakterioskopowe oraz zidentyfikować wyhodowany szczep prątków. Pełna mikrobiologiczna diagnostyka gruźlicy metodami klasycznymi zajmuje ok. 2 miesiące. Tak długi czas oczekiwania na wynik jest główną wadą metod klasycznych. Zgodnie z zaleceniami WHO postuluje się, aby łączny czas mikrobiologicznej diagnostyki gruźlicy nie przekraczał 21 dni, zarówno w medycynie ludzkiej, jak i w weterynarii. Jest to jednak możliwe dopiero przy zastosowaniu nowoczesnych metod diagnostycznych. Do tego celu należy wykorzystywać nieradiologiczny i w pełni automatyczny system hodowli na podłożu płynnym. Dodatkową zaletą jest również oznaczenie wrażliwości na leki p/gruźlicze: streptomycynę, izoniazyd, rifampicynę, etambutol (S.I.R.E.) oraz pyrazynamid (PZA). Wykonanie testu lekowrażliwości w weterynaryjnym aspekcie nie ma znaczenia klinicznego tylko epidemiologiczne.

**Materiał i metody:** Aparat BD BACTEC MGIT 320 jest przeznaczony do monitorowania 300 próbek. Probówki są rozmieszczone w szufladach i są inkubowane w procesie ciągłym, co zapewnia możliwość przeprowadzenia hodowli i określenie pełnej lekowrażliwości na S.I.R.E. i PZA w modułach inkubacyjno-pomiarowych. Materiałem do badania w systemie BD BACTEC MGIT oprócz tkanek, może być oczywiście płwocina, mocz, aspiraty, skóra oraz płyn mózgowo-rdzeniowy. Probówki BD MGIT zawierają płynne podłoże Middlebrooka, a czas hodowli do momentu detekcji wzrostu *Mycobacterium* trwa 6–7 dni. System detekcji polega na wzroście fluorescencji barwnika umieszczonego przy dnie probówki w wyniku spadku zawartości tlenu w podłożu w momencie wzrostu *Mycobacterium*. W systemie BD MGIT oprócz hodowli i detekcji wzrostu można określić lekooporność prątków z kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* na pięć podstawowych leków. Obserwacjom poddano 50 materiałów opracowanych metodami klasycznymi oraz z użyciem systemu MGIT.

**Wyniki i omówienie:** Zastosowanie klasycznych metod izolacji i identyfikacji prątków wymagało całkowitego czasu 6 tygodni do czasu sporządzenia wyniku badania. Zastosowanie systemu MGIT umożliwiło znacznie skrócenie tego czasu. Jednocześnie prowadzone są obserwacje w celu ograniczenia wykonywania próby biologicznej na zwierzętach laboratoryjnych. System do szybkiej hodowli prątków na pożywkach płynnych daje szereg wymiernych korzyści. Oprócz przyspieszenia laboratoryjnej diagnostyki gruźlicy bydłowej, zmniejsza jednocześnie koszty jednostkowego badania. Posiadanie omawianego aparatu w laboratorium umożliwia współpracę z ośrodkami medycyny ludzkiej (posługują się zestawami tego typu) oraz wykonywanie na bazie uzyskanych wyników szeregu prac naukowych. Kontakty z laboratorium referencyjnym UE w zakresie gruźlicy wskazują, że systemy tego typu są standardem w wyposażeniu laboratoriów diagnostycznych zajmujących się diagnostyką gruźlicy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Gümüşsoy K.S., Atasever A., Aydin F., Özcan M., Beyaz L., Hizlisoy H., Abay S., 2007. Prevalence of tuberculosis in cattle in Turkey. *Medycyna Wet.*, 63, 257–376.



## PRZYPADEK TRANSMISJI *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* Z CZŁOWIEKA NA BYDŁO

### A CASE OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* TRANSMISSION FROM HUMAN TO CATTLE

Monika Krajewska, Marek Lipiec

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: monika.krajewska@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Wśród wielu zagrożeń zdrowotnych w Polsce poważny problem stanowią choroby zakaźne i utrzymująca się na znacznie wyższym niż w innych krajach europejskich poziomie zachorowalność na gruźlicę. W Polsce w 2009 r. gruźlica była powodem 743 zgonów. W 2010 r. zarejestrowano 7509 chorych na gruźlicę, z czego 6610 przypadków były to nowe zachorowania. Gruźlica jest nadal klasyczną chorobą społeczną, chorobie tej można i należy zapobiegać, a także można ją skutecznie leczyć. Praktyka wykazuje, że poszczególne, główne typu prątków są powodem infekcji u określonych gatunków docelowych: *Mycobacterium tuberculosis* atakuje głównie ludzi, *Mycobacterium bovis* – bydło, *Mycobacterium pinnipedii* – ssaki wodne. Niekiedy notowane są jednak przypadki infekcji krzyżowych.

**Cel pracy:** Dokładne określenie przyczyny infekcji prątkami u bydła i ludzi w jednym gospodarstwie oraz określenie źródła tej infekcji.

**Materiał i metody:** Dodatkowo wyniki próby tuberkulinowej u bydła w pojedynczej próbie tuberkulinowej wskazywały na możliwość istnienia gruźlicy bydlęcej w tym stadzie (łącznie 4 osobniki). Zgodnie z obowiązującymi przepisami po 42 dniach wykonano tests porównawczy, potwierdzający wyniki dodatnie u dwu cieląt. Odpowiednie próbki zostały przekazane do Laboratorium Referencyjnego Gruźlicy PIWet-PIB.

Pochodząca z tego gospodarstwa kobieta jednocześnie zgłosiła się do lekarza z objawami infekcji oddechowej. Po pewnym czasie i wykonaniu specjalistycznych badań u kobiety stwierdzono infekcję gruźliczą, ze zmianami patologicznymi w tkance płucnej.

**Wyniki i omówienie:** Materiał pochodzący od cielęcia opracowano zgodnie z obowiązującymi w PIWet-PIB procedurami i po 6 tygodniach otrzymano wzrost prątków w przypadku próbek od jednego z cieląt. Jednocześnie z płwociny pobranej od pacjentki udało się wyodrębnić także szczep prątków. Identyfikację genotypową obu szczepów, pochodzących od cielęcia i od kobiety, wykonano metodą MIRU-VNTR. Stwierdzono, że obydwa szczepy mają ten sam spoligotyp T1911 i należą do *Mycobacterium tuberculosis*. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że kobieta z rozwiniętą gruźlicą płuc stanowiła źródło zakażenia dla obsługiwanego przez nią bydła. Zakażenia tego typu opisywano wcześniej, jednakże w Polsce jest to pierwszy tego typu udokumentowany przypadek. Zwykle prątki typu ludzkiego powodują tylko u bydła stan alergii tuberkulinowej, bez wywoływania postępowej choroby u zwierząt. Niekiedy jednak, po przełamaniu odporności organizmu możliwe jest wystąpienie choroby, szczególnie u osobników młodych. Mając na uwadze wyniki pracy, można stwierdzić, że w rejonach, gdzie współistnieje gruźlica bydlęca oraz notowane są przypadki gruźlicy u ludzi, niezbędne jest dokładne różnicowanie wyodrębnionych szczepów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Romero B., Rodríguez S., Bezos J., Díaz R., Copano M.F., Merediz I., Mínguez O., Marqués S., Palacios J.J., García de Viedma D., Sáez J.L., Mateos A., Aranaz A., Domínguez L., de Juan L., 2011. Humans as source of *Mycobacterium tuberculosis* infection in cattle, Spain. *Emerg. Infect. Dis.*, 17.



## ANALIZA GENOTYPOWA SZCZEPÓW *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* WYIZOLOWANYCH OD ŚWIŃ

### GENOTYPE ANALYSIS OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS ISOLATED FROM PIGS

Paweł Krupa, Jarosław Bystron, Magdalena Podkowiak, Jacek Bania

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: jaroslaw.bystron@up.wroc.pl

Trzoda chlewna od stosunkowo niedawna uznawana jest jako istotny rezerwuuar MRSA, czyli szczepów *S. aureus* opornych na wszystkie klinicznie stosowane  $\beta$ -laktamy. Badania przeprowadzone w wielu krajach wykazały, że dominującym wśród nich genotypem jest ST398, w obrębie którego zidentyfikowano szereg genotypów *spa*. Wciąż niewiele wiadomo na temat zróżnicowania genetycznego wrażliwych na metycylinę szczepów *S. aureus* (MSSA) pochodzących od świń oraz szczepów wykazujących graniczną oporność na  $\beta$ -laktamy (BORSA). Określenie genotypu *spa* pozwala określić profil genetyczny *S. aureus* występujących u świń, a poprzez porównanie z danymi innych ośrodków umożliwi ustalenie źródeł i ewentualnych dróg ich rozprzestrzeniania.

**Cel pracy:** Określenie genotypu *spa* szczepów *S. aureus* wyizolowanych od trzody chlewnej.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły wymazy z nozdrzy i jamy nosowo-gardłowej pobrane, bezpośrednio po oszołomieniu, od 600 świń w dwóch ubojniach. Do izolacji *S. aureus* wykorzystano podłoża Giolitti i Cantoni oraz Baird-Parker. Szczepy sprawdzono pod kątem obecności czynnika zlepnego (clumping factor) i zdolności produkcji koagulazy, potwierdzając we wszystkich szczepach obecność genu termonukleazy *nuc*. DNA wyizolowane ze szczepów użyto jako matrycy do PCR z zastosowaniem starterów flankujących fragment X genu *spa*. Produkty PCR poddano sekwencjonowaniu. Genotypy *spa* ustalono z wykorzystaniem bazy Ridom.

**Wyniki i omówienie:** Wyizolowano 66 szczepów *S. aureus*. Dominującym genotypem okazał się *spa* t318 (48,5% badanych szczepów). t318 zalicza się do genotypu ST30, do którego należą gronkowce odpowiedzialne za zakażenia szpitalne u ludzi. 15 szczepów zaklasyfikowano do genotypu t021 (22,5%), 9 do genotypu t034 (13,5%), zaliczonego do genotypu ST398, stwierdzanego w wielu gatunkach zwierząt gospodarskich. 4 szczepy zaliczono do genotypu t1430 (6%). Częstość występowania pozostałych 4 genotypów nie przekroczyła 3%. Dwa spośród badanych szczepów zaliczono do nowego genotypu *spa*, nienotowanego dotychczas w bazie Ridom.

Tabela 1. Charakterystyka genotypów *spa* szczepów *S. aureus*

Genotyp <i>spa</i>	Liczba szczepów
t318	32
t021	15
t034	9
t1430	4
t1334	2
nieznany genotyp	2
t252	1
t8588	1

#### Piśmiennictwo:

- [1] Harmsen D. i wsp., 2003. Typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting using a novel software for *spa*-repeat determination and database management. J. Clin. Microbiol., 41, 5442–5448.
- [2] Huber H., Koller S., Giezendanner N., Stephan R., Zweifel C., 2010. Prevalence and characteristics of *Meticillin-Resistant Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, in livestock, and in food of animal origin, Switzerland, 2009. Eurosurveillance, 15 (16).
- [3] Price L.B. i wsp., 2012. *Staphylococcus aureus* CC398: host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. mBio 3 (1).



## ANALIZA WYDAJNOŚCI I ZAWARTOŚCI SKŁADNIKÓW MLEKA KRÓW PO STWIERDZENIU OBECNOŚCI PRZECIWCIAŁ ANTY-*OSTERTAGIA OSTERTAGI*

### ANALYSIS OF MILK YIELD AND MILK INGREDIENTS AFTER NOTING THE PRESENCE OF ANTI-*OSTERTAGIA OSTERTAGI*

Katarzyna Liedtke, Joanna Szteyn, Agnieszka Wiszniewska-Łaszczych,  
Elżbieta Bednarko-Młynarczyk

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej  
Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn, email: katarzyna.liedtke@uwm.edu.pl

Inwazje nicieni żołądkowo-jelitowych u krów mlecznych mogą wpływać na zmiany produktywności zwierząt. Najczęstszym pasożytem wewnętrznym bydła mlecznego jest *Ostertagia ostertagi*. Uszkodzenie śluzówki spowodowane przez nicienie żołądkowo-jelitowe jest przyczyną pogorszenia strawności i resorpcji paszy, może ponadto powodować zmiany w zawartości podstawowych składników odżywczych mleka

**Cel badań:** Określenie ekstensywności inwazji w wybranych stadach bydła mlecznego w kierunku *Ostertagia ostertagi*, ze szczególnym uwzględnieniem sztuk będących w pierwszej laktacji oraz analiza wydajności i zawartości podstawowych składników mleka pochodzącego od krów wykazujących wyniki seropozytywne.

**Materiał i metody:** Do badań z terenu Warmii i Mazur wytypowano 5 stad bydła mlecznego, o różnej wielkości, będących pod kontrolą użyteczności mlecznej. Próbkę mleka wymieniowego oceniane były w kierunku obecności przeciwciał anti-*Ostertagia ostertagi* testem ELISA: *Ostertagia ostertagi* antibody ELISA *O.ostertagi* firmy Ab Svanova. Ocenę wydajności i zawartości poszczególnych składników mleka wybranych stadach przeprowadzono metodą AT4. Uzyskane rezultaty poddano analizie statystycznej testem U Manna – Whitnea z wykorzystaniem pakietu STATISTICA 9.0 (StatSoft Inc., USA)

**Wyniki i omówienie:** Ekstensywność inwazji w poszczególnych stadach była zróżnicowana i mieściła się w przedziale 11,9–27,27% (średnio 20,2%). U sztuk będących w pierwszej laktacji była wynosiła 18,75–71,42% (średnio 42,49%). Dokonana analiza mleczności w stadach wykazała, że u zwierząt będących w pierwszej laktacji średnia wydajność wynosiła 5805 kg i była mniejsza o 680 kg od średniej wydajności wszystkich krów biorących udział w badaniu (6485 kg). Krowy będące w pierwszej laktacji, w których mleku wymieniowym stwierdzono obecność przeciwciał anti-*Ostertagia ostertagi*, produkowały średnio o 470 kg mleka rocznie mniej w porównaniu z pozostałymi osobnikami będącymi w tym samym okresie laktacji. Analiza wyników nie potwierdziła istotności statystycznej tej różnicy, podobnie jak nie wykazała istotnych różnic statystycznych w % zawartość tłuszczu, białka oraz suchej substancji.

Brak różnic statystycznych wynikać może ze zbyt dużej rozpiętości między największą a najmniejszą wydajnością krów w pierwszej laktacji. Pomimo braku istotności statystycznej producent ponosi duże straty ekonomiczne. Przeprowadzone badania m.in. w Holandii, Belgii, Irlandii, Hiszpanii, Kanadzie [1, 2] dowodzą, iż obecność inwazji *Ostertagia ostertagi* w stadach bydła mlecznego stanowi problem globalny w opłacalności produkcji mleka.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Charlier J., Claerebout E., Duchateau L., Vercruyssen J., 2005. A survey to determine relationship between bulk tank milk antibodies against *Ostertagia ostertagi* and milk production parameters. *Vet. Parasitology*, 129, 67–75.
- [2] Sanchez J., Dohoo I., 2002. A bulk tank milk survey of *Ostertagia ostertagi* antibodies in dairy herds in Prince Edward Island and their relationship with herd management factors and milk yield. *Can. Vet. J.* Volume, 43, 454–459.





## STAN GRUŻLICY BYDŁĘCEJ OD MOMENTU UZNANIA POLSKI ZA KRAJ URZĘDOWO WOLNY OD CHOROBY

### STATE OF BOVINE TUBERCULOSIS SINCE OF APPROVAL OF POLAND AS OFFICIALLY DISEASE-FREE

Marek Lipiec, Monika Krajewska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, e-mail: mlipiec@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Gruźlica bydła jest zakaźną chorobą bydła o ściśle zdefiniowanych przepisach o jej zwalczaniu i eliminacji. Od wielu lat Polska walczyła z gruźlicą bydłą, początkowo w związku z tzw. wielką akcją zwalczania choroby w latach 1959–1975, a następnie, po wstąpieniu do Unii Europejskiej na podstawie prawa międzynarodowego, szczególnie Dyrektywy 64/432. W roku 2009 dzięki Decyzji Komisji Europejskiej z dnia 23 kwietnia 2009 r. Polska została uznana za kraj urzędowo wolny od gruźlicy bydłowej. Uznanie to nie oznacza oczywiście całkowitej eliminacji choroby z praktyki weterynaryjnej.

**Cel pracy:** Określenie aktualnej sytuacji epidemiologicznej w zakresie gruźlicy bydłowej w stadach bydła w Polsce na podstawie wyników badań laboratoryjnych prowadzonych w Laboratorium Referencyjnym Gruźlicy w Zakładzie Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki pochodzące od bydła, uznanego za reagujące dodatnio w pojedynczym lub porównawczym teście tuberkulinowym w związku z corocznymi badaniami bydła na terenie całego kraju. Badania próbek prowadzono zgodnie z aktualnymi zaleceniami międzynarodowymi i krajowymi w tym zakresie i składało się z następujących etapów: badanie anatomopatologiczne, mikroskopowe, hodowlane na podłożach różnicujących, hodowlane, biologiczne na zwierzętach laboratoryjnych oraz typowanie wyodrębnionego szczepu prątków.

**Wyniki i omówienie:** Zgodnie z danymi za rok 2009, w którym uznano Polskę za kraj wolny od gruźlicy bydłowej, wykonano łącznie badania 111 próbek pochodzących od bydła uznanego za podejrzanego o chorobę (reagujące w teście tuberkulinowym). Istnienie choroby stwierdzono u 60 zwierząt pochodzących z 12 gospodarstw (12 ognisk choroby). Ogniska choroby były rozrzucone na całym terytorium kraju, jednakże cztery z nich były zlokalizowane na terenach, na których choroba występowała w latach wcześniejszych. W kolejnym, 2010 r. sytuacja epidemiologiczna nieznacznie się pogorszyła: zbadano łącznie 147 próbek, zaś chorobę stwierdzono w 18 różnych gospodarstwach. Jedna trzecia z nich była zlokalizowana w północnej części województwa mazowieckiego, gdzie od wielu lat wykazano istnienie ognisk gruźlicy bydłowej. W następnym roku 2011 stwierdzono podobną sytuację epidemiologiczną: zbadano łącznie 180 próbek, a istnienie gruźlicy zanotowano w 16 ogniskach.

W badanym okresie dodatkową trudnością w badaniach tuberkulinowych była zmiana preparatu diagnostycznego. Tuberkulina polska, stosowana do wielu lat, została zastąpiona tuberkuliną czeską o zbliżonej mocy, ale o różnej objętości iniekcyjnej. Nastąpiła także zmiana w częstotliwości wykonywanych badań terenowych. Decyzją Głównego Lekarza Weterynarii badaniom podlega corocznie 20% bydła na danym terenie, tak aby w ciągu 5 lat zbadane zostało całe pogłowie. Należy również podkreślić, że w badaniach laboratoryjnych odsetek wyników ujemnych (bez izolacji szczepu) wahał się od 40 do 50%. Świadczy to o znacznym odsetku wyników fałszywie dodatnich stwierdzanych w teście tuberkulinowym. Biorąc pod uwagę całość danych uzyskanych w analizowanym okresie, należy stwierdzić, że badania w kierunku gruźlicy bydłowej w Polsce i przyjęty system pozwalają na utrzymanie osiągniętego statusu kraju wolnego od gruźlicy bydłowej oraz umożliwiają na kontrolowane zwalczanie i dalszą eliminację choroby w stadach bydła.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Lipiec M., 2011. Metody i testy stosowane w praktyce do rozpoznawania zakażeń prątkami kwasoopornymi u zwierząt domowych i dzikich. Wyd. PIWet-PIB, Puławy.
- [2] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 23 listopada 2004 r. w sprawie zwalczania gruźlicy bydła (Dz. U. 2004, Nr 258, poz. 2585).





## TEST GAMMA INTERFERONOWY ZAMIAST TESTU TUBERKULINOWEGO W DIAGNOSTYCE GRUŹLICY BYDŁĘCEJ – PERSPEKTYWA BLIŻSZA CZY DALSZĄ?

### GAMMA INTERFERON TEST INSTEAD OF TUBERCULIN TEST IN THE DIAGNOSIS OF BOVINE TUBERCULOSIS – CLOSER OR FURTHER PERSPECTIVE?

Marek Lipiec, Monika Krajewska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, e-mail: mlipiec@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Gruźlica bydła jest zakaźną chorobą bydła o ściśle zdefiniowanych przepisach o jej zwalczaniu i eliminacji. Od dziesiątków lat podstawą zwalczania gruźlicy bydła, nie tylko w Polsce, jest test tuberkulinowy, wykonywany jako test pojedynczy lub porównawczy, z wykorzystaniem tuberkuliny bydła i tuberkuliny ptasiej, w odpowiednich dawkach. Rozporządzeniem Komisji nr 1226/2002/WE dopuszczono do praktyki weterynaryjnej stosowanie, jako testu dodatkowego, testu gamma interferonowego, opisanego w rozdziale 2.4.7. Manual OIE. W 2012 r. Komisja Europejska wystosowała do European Food Safety Authority (EFSA) zapytanie, czy test gamma interferonowy mógłby być wprowadzony zamiast testu tuberkulinowego do powszechnej praktyki weterynaryjnej w Europie w zwalczaniu gruźlicy bydła.

**Cel pracy:** Wypracowanie stanowiska Laboratorium Referencyjnego Gruźlicy Zakładu Mikrobiologii PIWet-PIB w sprawie stosowania tego testu w praktyce i przedstawienie go na wspólnym posiedzeniu przedstawicieli poszczególnych państw UE.

**Materiał i metody:** Badania własne wykonywano na surowicach od bydła zdrowego, bydła po dodatnich wynikach testów tuberkulinowych oraz bydła z dodatnimi wynikami testów na paratuberkulozę. Stanowisko w sprawie przydatności testu przygotowano także na podstawie dostępnych danych literaturowych oraz analizy gotowego zestawu pod kątem jego czasochłonności i pracochłonności.

W skład gotowego zestawu wchodzi szereg komponentów służących do wykonania badania, zaś sam test polega na pomiarze poziomu gamma interferonu uwolnionego pod wpływem swoistych antygenów (tuberkulin PPD) przez uczulone limfocyty pełnej krwi. Jego poziom jest mierzony w sposób podobny jak w klasycznym teście ELISA. Wzajemny stosunek poziomu gamma interferonu wydzielonego w próbie kontrolnej, próbie z tuberkuliną PPD ptasiej i tuberkuliną PPD bydła decyduje o klasyfikowaniu zwierzęcia jako wolnego od zakażenia lub podejrzanego o gruźlicę bydła. Testy te są dostępne w handlu jako gotowe zestawy diagnostyczne dla bydła (Bovigam) i naczelnych (Primagam).

**Wyniki i omówienie:** W badaniach własnych stwierdzono, że test gamma interferonowy wykazywał w grupie 50 zwierząt zdrowych tylko wyniki ujemne, bez fałszywie dodatnich, co świadczy o zadowalającej swoistości zastosowanego testu. Spośród 25 badanych zwierząt określonych jako podejrzanego (w dalszych badaniach u 24 z nich stwierdzono wynik dodatni badania mikrobiologicznego) u 17 stwierdzono dodatni wynik testu gamma interferonowego, zaś u 8 fałszywie ujemny. Czułość zastosowanego testu określono na 68%.

W analizie metodycznej zestawu należy podkreślić, że istotnym i newralgicznym momentem wykonania badania, tak aby wyniki były w pełni miarodajne, jest pozyskanie i transport krwi. Krew musi być pobrana w objętości co najmniej 5 ml na antykoagulant, którym musi być heparyna. Inne antykoagulanty nie powinny być używane. Istotnym problemem w wykonaniu testu jest przesłanie próbek pełnej krwi w odpowiednich warunkach i dostatecznie szybko do laboratorium diagnostycznego. Uzyskane wyniki wskazują ponadto, że test gamma interferonowy może dać wyniki fałszywie ujemne, nawet w przypadkach wyodrębnienia *M. bovis*. Oceniono, że test gamma interferonowy nie może stanowić jedynego testu stosowanego do rozpoznawania gruźlicy bydła u pojedynczych zwierząt i może być stosowany tylko jako pomocniczy test stada. Interpretację wyników należy przeprowadzać w kontekście dostępnej historii badań w kierunku gruźlicy w stadzie, informacji epidemiologicznych i klinicznych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Lipiec M., 2011. Metody i testy stosowane w praktyce do rozpoznawania zakażeń prątkami kwasoopornymi u zwierząt domowych i dzikich. Wyd. PIWet-PIB, Puławy.



## ZANIECZYSZCZENIE MIKROBIOLOGICZNE OWOCÓW MORZA PRZEZNACZONYCH DO KONSUMPCJI W POLSCE

### MICROBIOLOGICAL CONTAMINATION OF SEAFOOD INTENDED FOR CONSUMPTION IN POLAND

Magdalena Łopatek, Remigiusz Pomykała, Kinga Wieczorek, Mirosław Michalski, Jacek Osek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Al. Paryżantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: magdalena.tatarczak@piwet.pulawy.pl

W świetle danych epidemiologicznych w ostatnich latach owoce morza stanowią istotne źródło zatruc pokarmowych. Według raportu Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) w 2010 r. w Unii Europejskiej odnotowano łącznie 5,262 ogniska zatruc pokarmowych spowodowanych czynnikami zoonotycznymi, których źródłem w 8,5% potwierdzonych przypadków były owoce morza (wzrost o 4,9% w porównaniu z 2009 r.). Kraje takie jak Francja, Włochy, Hiszpania i Wielka Brytania od wielu lat prowadzą nadzór sanitarno-weterynaryjny nad obszarami hodowli małży blaszkoskrzelnych. W Polsce nie ma takich obszarów, jednak spożycie owoców morza z roku na rok wzrasta. Prowadzenie stałego monitorowania bakterii chorobotwórczych w tego rodzaju żywności pozwoli na ocenę sytuacji epidemiologicznej związanej z jej spożyciem.

**Cel pracy:** Ocena zanieczyszczenia mikrobiologicznego małży blaszkoskrzelnych dostępnych na polskim rynku.

**Materiał i metody:** W latach 2009–2011 zbadano 300 próbek żywych małży docierających do Polski z krajów UE. Materiał stanowiły różne gatunki owoców morza: ostrygi (*Crassostrea gigas*), omułki (*Mytilus edulis*), małże Wenus (*Mercenaria mercenaria*), małże vongole (*Tapes semidecussatus*), przegrzebki (*Pecten maximus*), amandy (*Glyceria glycymeria*) i palourdy (*Tapes philippinarum*). Próbkę były analizowane w kierunku obecności patogennych bakterii takich jak *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Vibrio* spp., koagulazododatnie *Staphylococcus aureus* oraz beztlenowe bakterie przetrwalnikujące i redukujące siarczan IV. Dodatkowo oznaczane były: ogólna liczba drobnoustrojów, liczba drożdży i pleśni oraz liczba *E. coli*. Badania mikrobiologiczne prowadzono zgodnie z normami ISO, stosując w niektórych przypadkach pewne modyfikacje. Podejrzone kolonie *Salmonella* spp. oraz *Vibrio* spp. były identyfikowane za pomocą biochemicznego analizatora ID 32E, a w przypadku *L. monocytogenes*, koagulazododatnich *S. aureus* oraz bakterii beztlenowych odpowiednio przy udziale API Listeria, ID 32 Staph oraz ID 32A.

**Wyniki i omówienie:** Prowadzone badania 300 próbek małży wykazały, że w 4 z nich (1,3%) stwierdzono obecność *Salmonella* spp., podczas gdy *L. monocytogenes* i *Campylobacter* spp. były nieobecne we wszystkich wziętych do badania próbkach. *V. parahaemolyticus* izolowano w 18,3% przypadków (55 z 300), natomiast 45 próbek (15,0%) zostało potwierdzonych jako *S. aureus*. Ponadto, zanotowano duże zanieczyszczenie (60,0%) beztlenowymi bakteriami przetrwalnikującymi. Ogólna liczba drobnoustrojów mieściła się w zakresie od  $1,5 \times 10^1$  do  $2,8 \times 10^8$  jtk/g, a maksymalny poziom drożdży i pleśni wynosił  $2,6 \times 10^3$  jtk/g. Liczba *E. coli*, jako wskaźnika mikrobiologicznego zanieczyszczenia małży blaszkoskrzelnych, wynosiła od  $< 2,0 \times 10^1$  do  $9,2 \times 10^6$  drobnoustrojów/100 g, przy czym w 27 próbkach (9,0%) został przekroczony dopuszczalny ich poziom (230 NPL/100 g). Otrzymane wyniki wskazują na występujące zanieczyszczenie mikrobiologiczne małży blaszkoskrzelnych przeznaczonych do konsumpcji w Polsce. Wydaje się konieczne prowadzenie stałego monitorowania mikrobiologicznego zanieczyszczenia owoców morza dostępnych na rynku, co pozwoli w przyszłości na zminimalizowanie ryzyka zatruc pokarmowych wywołanych drobnoustrojami chorobotwórczymi.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Oliveira J., Cunha A., Castilho F., Romalde J.L., Pereira M.J., 2011. Microbial contamination and purification of bivalve shellfish: Crucial aspects in monitoring and future perspectives – A mini-review, Food Control, 22, 805–816.



## BADANIA WPŁYWU NOWEJ GENERACJI FOSFATYDYLO-BETULINY NA WYBRANE DROBNOUSTROJE

## THE EFFECT OF A NEW GENERATION OF PHOSPHATIDYLO-BETULIN IN SELECTED MICROORGANISMS

Adam Malicki<sup>1</sup>, Czesław Wawrzęńczyk<sup>2</sup>, Barbara Tubek<sup>2</sup>, Paulina Janik<sup>1</sup>, Maciej Szpak<sup>1</sup>,  
Jolanta Źródłowska-Danek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, ul. Norwida 29, 50-375 Wrocław, e-mail: adam.malicki@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Nauk o Żywności, Katedra Chemii, ul. Norwida 25/27, 50-375 Wrocław, e-mail: czeslaw.wawrzenczyk@up.wroc.pl

**Materiał:** W świecie roślin związki takie jak mono-, seskwi-, di-, sestra-, tri-, tetra- i politerpeny są jednymi z najbardziej rozpowszechnionych. Przedstawicielami tej podgrupy są betulina i kwas betulinowy. Betulinę izoluje się z białej części kory brzozy (*Betula pendula* Roth.). Kwas betulinowy, chociaż występuje w wielu roślinach, najkorzystniej jest otrzymywać metodami chemicznymi z jego prekursora – betuliny.

**Cel pracy:** Badania nowej fosfolipidowej pochodnej betuliny: (28-O-(1,2-di-O-palmitoilo-sn-glicero-3-fosfatydylo)-betulina – sposób jej otrzymania oraz badania dotyczące wpływu na drobnoustroje chorobotwórcze. Sposób otrzymywania polega na tym, że kwas 1,2-di-O-palmitoilo-sn-glicero-3-fosfatydowy albo jego sól poddaje się reakcji estryfikacji z betuliną, z udziałem czynnika sprzęgającego, w pirydynie. W niniejszej pracy substancje, jakie zostały poddane badaniu mikrobiologicznemu, to: betulina, kwas betulinowy oraz związki DAPA, DOPA, DAPB, DPPB, DOPB oraz DSPB. Powyższe związki zbadano na wybranych szczepach drobnoustrojów: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp. oraz *Candida albicans*.

**Wyniki i omówienie:** Betulina oraz kwas betulinowy względnie łatwo rozpuszczalne w DMSO (dimetylosulfotlenku) oraz alkoholu etylowym w stężeniu 96%, rozpuszczalniki były użyte w proporcjach 1:1. Kontrole po 3 godz., 5 godz., 12 godz. oraz 24 godz. nie wykazały znaczącej redukcji drobnoustrojów, natomiast po 24 godz. inkubacji wzrost drobnoustrojów był zahamowany.

### Piśmiennictwo:

- [1] Zuco V., Supino R., Righetti S.C., Cleris L., Marchesi E., Gambacorti-Passerici C., Formelli F., *Canc. Lett.*, 2002, 175, 17.
- [2] Hashimoto F., Kashiwada Y., Cosentino L.M., Chen C.H., Garrett P.E., Lee K.H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1997, 5, 2133.
- [3] Ziegler H., Franzyk H., Sairafianpour M., Tabatabai M., Tehrani M., Bagherzadeh K., Hagerstrand H., Staerk D., Jaroszewski J., *Bioorg. Med. Chem.*, 2004, 12, 119.
- [4] Hess S.C., Brum R.L., Honda N.K., Cruz A.B., Moretto E., Cruz R.B., Messana I., Ferrari F., Filho V.C., Yunes R.A., *J. Ethnopharm.*, 1995, 47, 97.
- [5] Cota B.B., de Oliveira A.B., de Souza-Filho J.D., Braga F.C., *Fitoterapia* 2003, 74, 729.
- [6] El-Fishawy A., Zayed R., Afifi S., *J. Nat. Prod.*, 2011, 4, 184.
- [7] Bastos D.Z.L., Pimentel I.C., de Jesus D.A., de Oliveira B.H., *Phytochem.*, 2007, 68, 834.
- [8] Chatterjee P., Kouzi S.A., Pezzuto J.M., Hamann M.T., *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, 66, 3850.



## BADANIA MIKROBIOLOGICZNE NOWEJ GENERACJI PREPARATÓW FITO-MINERALNYCH, Z UWAGI NA MOŻLIWOŚĆ ICH WYKORZYSTANIA W ŻYWIENIU ZWIERZĄT MONOGASTRYCZNYCH

### MICROBIOLOGICAL RESEARCH AND EVALUATION OF A NEW GENERATION PHYTO-MINERAL PREPARATIONS, DUE TO THE POSSIBILITY OF THEIR USE IN FEEDING MONOGASTRIC ANIMALS

Adam Malicki<sup>1</sup>, Sebastian Opaliński<sup>2</sup>, Paulina Janik<sup>1</sup>, Fabiola Bubel<sup>2</sup>, Maciej Szpak<sup>1</sup>,  
Jolanta Źródłowska-Danek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, ul. Norwida 29, 50-375 Wrocław, e-mail: adam.malicki@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38C, 51-630 Wrocław, e-mail: sebastian.opalinski@up.wroc.pl

**Materiał, metody oraz cel pracy:** Fitoncydy to substancje pochodzenia naturalnego, produkowane przez niektóre rośliny, takie jak rzodkiew, cebula, czosnek, por, chrzan, eukaliptus, krwawnik, szaflwia, anyż, tymianek, borówka itp. Występują one w postaci gazowej, krystalicznej i ciekłej. Wykazują silne działanie bakteriobójcze, grzybobójcze oraz pierwotniakobójcze, a niektóre także właściwości wirusobójcze. W ostatnich latach zostały odkryte nowe właściwości lecznicze tych związków, np. przeciwmiażdżycowe, hipotensyjne, hipoglikemiczne, onkostatyczne oraz estrogenne. Dowiedziono, iż fitoncydy siarkowe działają silniej i szybciej przeciwbakteryjnie na bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne niż niektóre znane antybiotyki (np. neomycyna). Dodatkowo działają rozkurczowo, żółciotwórczo i hipotensyjnie. Olejki czosnkowe hamują agregację krwinek, zapobiegając zakrzepicy, zaś fitoncyd czosnku działa prątkobójczo – zabija prątki gruźlicze. Celem pracy była ocena stanu mikrobiologicznego preparatów fitomineralnych bezpośrednio po produkcji oraz w trakcie przechowywania. Wykonano badania próbek o konsystencji stałej i płynnej, w kierunku następujących drobnoustrojów: bakterii proteolitycznych oraz bakterii psychrofilnych, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella sp.*, *E. coli*, pleśni i drożdży, a także ogólnej liczby bakterii. Jako że produkt będzie używany przez wiele miesięcy postanowiono wykonać badania mikrobiologiczne preparatów w czasie sześciu miesięcy. Badania mikrobiologiczne były w tym czasie wykonywane co dwa miesiące.

**Wyniki i omówienie:** W wyniku uzyskanych badań zostały wytypowane cztery próbki. Dwie próbki z postaci stałej oraz dwie z postaci płynnej o najlepszych parametrach mikrobiologicznych. Próbki te były badane w warunkach tlenowych. W środowisku wytypowanych preparatów wyznaczone zostały krzywe przeżycia dla *E. coli* oraz pałeczek *Salmonella*. Preparaty zarówno w postaci płynnej, jak i stałej utrzymują podobny poziom zanieczyszczeń mikrobiologicznych, a liczba bakterii uzależniona jest od higieny ich wytworzenia. Badane preparaty fito-mineralne nie stanowią zagrożenia mikrobiologicznego w żywieniu zwierząt.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Commission Regulation on microbiological criteria for feedstuffs – SANCO/2009/JHR/2009-EN.
- [2] Kwiatek K., Kukier E., 2007. Kryteria jakości mikrobiologicznej pasz. Pasje przemysłowe, 7/8, 8–10.
- [3] Kwiatek K., Kukier E., Wasyl D., Hoszowski A., 2008. Jakość mikrobiologiczna mieszanek paszowych w Polsce. Med. Wet., 64 (7), 949–954.
- [4] Kwiatek K., Kukier E., 2008. Zanieczyszczenia mikrobiologiczne pasz. Med. Wet., 64 (1), 24–26.





## BADANIA I OCENA POZIOMU AKTYWNOŚCI WODNEJ ORAZ ILOŚCIOWE OKREŚLENIE KWASOWOŚCI I ZASADOWOŚCI NOWEJ GENERACJI PREPARATÓW FITOMINERALNYCH, Z UWAGI NA MOŻLIWOŚĆ ICH WYKORZYSTANIA W ŻYWIENIU ZWIERZĄT MONOGASTRYCZNYCH

## RESEARCH AND EVALUATION WATER ACTIVITY AND QUANTIFICATION OF THEIR ACIDITY AND ALKALINITY OF A NEW GENERATION PHYTO-MINERAL PREPARATIONS, DUE TO THE POSSIBILITY OF THEIR USE IN FEEDING MONOGASTRIC ANIMALS

Adam Malicki<sup>1</sup>, Sebastian Opaliński<sup>2</sup>, Paulina Janik<sup>1</sup>, Fabiola Bubel<sup>2</sup>, Maciej Szpak<sup>1</sup>,  
Jolanta Źródłowska-Danek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, ul. Norwida 29, 50-375 Wrocław, e-mail: adam.malicki@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, ul. Chełmońskiego 38C, 51-630 Wrocław, e-mail: sebastian.opalinski@up.wroc.pl

**Materiał i cel pracy:** W związku z realizacją projektu wykonano badania preparatów o konsystencji płynnej (próbki 1–8) oraz stałej (próbki 9–16). Były to m.in. preparaty paszowe na bazie stabilizowanej miazgi z liści żyworódki i lucerny, preparaty paszowe na bazie stabilizowanej miazgi z liści żyworódki, preparaty paszowe na bazie stabilizowanego soku z liści żyworódki oraz preparaty paszowe na bazie stabilizowanego soku z liści żyworódki i lucerny.

Celem pracy było zmierzenie aktywności wodnej oraz ilościowe określenie kwasowości i zasadowości próbek nowej generacji preparatów fitomineralnych. Aktywność wodna ( $a_w$ ) ma na celu określenie zapotrzebowania drobnoustrojów na wodę (jest to stosunek ciśnienia pary wodnej nad żywnością do ciśnienia pary wodnej nad czystą wodą, mierzone w określonej temperaturze). Aktywność wody tzw. czystej chemicznie wynosi 1 ( $a_w=1$ ). Wraz ze wzrostem związków rozpuszczalnych  $a_w$  spada poniżej 1. Wzrost większości znanych w mikrobiologii mikroorganizmów następuje w środowiskach o aktywności wodnej wynoszącej powyżej 0,95. Część jednak rośnie w środowiskach o  $a_w$  wynoszącej 0,6. Wykonując natomiast pomiary ilościowego określenia kwasowości oraz zasadowości substancji, posługiwano się pH-metrem. Ma on zastosowanie m.in. w pomiarach środków spożywczych, wody oraz kontroli pH ścieków. Dodatkowo, z uwagi na wbudowany pomiar temperatury możliwe było wykazanie dokładniejszych pomiarów badanych związków. Badania wykonano bezpośrednio po produkcji oraz z uwagi na przeznaczenie produktu także w czasie sześciu miesięcy przechowywania w temperaturze 20°C.

**Wyniki i omówienie:** Preparaty zarówno w postaci płynnej, jak i stałej utrzymują niski poziom aktywności wodnej i w większości niski poziom pH. Z punktu widzenia aktywności wodnej oraz skali pH badane preparaty fitomineralne nie stanowią więc zagrożenia w żywieniu zwierząt.

### Piśmiennictwo:

- [1] Aumaitre A., 1999. Quality and safety of animal products. *Livestock Production Science*, 59, 113–124.
- [2] Bolder N.M., Wagenaar J.A., 1999. Feed additives can still be an effective tool. *World Poultry*, November 1999, 38–39.
- [3] Leibetseder J., 2008. Importance of feed hygiene to animal and human health. *Acta Scientiarum Polonorum, Medicina Veterinaria*, 7(3), 3–10.
- [4] Różański H., Drymel W., 2010. AdiCox jako źródło fitoaleksyn i fitoncydów, *Polskie drobiarstwo* 12/17–20.





## JAKOŚĆ SENSORYCZNA WYBRANYCH WĘDZONEK I WĘDLIN PODROBOWYCH

### SENSORY QUALITY OF SELECTED SMOKED MEAT PRODUCTS AND OFFAL PRODUCTS

Alicja Migowska-Calik, Jan Uradziński, Małgorzata Gomółka-Pawlicka

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, Olsztyn, ul. Oczapowskiego 14. 10-718 Olsztyn, e-mail: alicjamigowska@gmail.com

Produkty tradycyjne, w tym wędliny, cieszą się w ostatnich latach coraz szerszym uznaniem, a konsumenci darzą tego rodzaju wyroby coraz większym zaufaniem. Jest to swego rodzaju odpowiedź, a nawet rodzaj cichego protestu człowieka przeciwko postępującej lawinie globalizacji.

Mając na względzie aktualne trendy w aspekcie spożywanej żywności, obserwując postępujące zmiany w sposobie odżywiania się współczesnego konsumenta, podjęto badania własne, których celem była obiektywna weryfikacja powszechnie panującego przekonania o wysokiej jakości i wybitnych walorach sensorycznych wędlin tradycyjnych.

**Materiał i metody:** Przeprowadzono analizę sensoryczną wybranych sześciu wyrobów mięsnych i podrobowych wpisanych na Listę Produktów Tradycyjnych Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Produkty podzielono na trzy grupy, po dwa produkty w każdej; odpowiednio: wędzonki parzone, wędzonki nieparzone oraz wędliny podrobowe. Wędliny te nabywano każdorazowo bezpośrednio od producentów działających na terenie północnej Polski. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem metody punktowej oraz z zastosowaniem skali bipolarnej (badanie stopnia intensywności natężenia danej cechy – według PN-ISO 4121). Wykonano je w pracowni sensorycznej, urządzonej zgodnie z wytycznymi zawartymi w PN ISO 8589 (1998). Ocenę przeprowadził 7-osobowy zespół, spełniający minimum sensoryczne. Oceniono następujące wyróżniki jakościowe (metoda 6 punktowa): wygląd zewnętrzny i na przekroju, barwa, zapach, konsystencja i struktura, słoność, soczystość i smakowitość oraz stopień intensywności następujących cech produktu badanego: zapach, konsystencja, związanie plastra, barwa na przekroju, słoność, intensywność przypraw, soczystość, wyrazistość smaku. Przeprowadzono 3 serie badań każdego produktu. Przeprowadzono również sesję wstępną, podczas której panel sensoryczny miał możliwość zapoznania się z produktem, opracowania zestawu wyróżników jakościowych poddawanych ocenie i związanych z nimi współczynników ważkości.

**Wyniki i omówienie:** Badane produkty mięsne charakteryzowały się wysoką jakością sensoryczną. Średnia ocena wyrobów podrobowych wahała się między poszczególnymi seriami w zakresie 5,0–5,1. Oceny te były również bardzo zbliżone między badanymi produktami. Pośród wędzonek wyższe średnie oceny uzyskały wędliny parzone. Wartości średnich ocen dla tych produktów wahały się od 5,3 do 5,7. Wędzonki, których technologia produkcji nie przewiduje etapu parzenia, oceniane były na średnim poziomie 4,9–5,1. Na stosunkowo niską notę w przypadku tych wyrobów największy wpływ miały takie cechy jak: wygląd zewnętrzny i na przekroju, konsystencja i struktura oraz smakowitość. Największym stopniem powtarzalności poszczególnych cech sensorycznych charakteryzowały się wędzonki parzone. W przypadku tych wędlin oceny na skali bipolarnej wykazały najmniejsze odchylenia, a oceniający najczęściej wskazywali pole „S”, określając stopień wyrażenia danej cechy jako idealny. Najbardziej zmienne pod kątem badanych cech okazały się wędzonki nieparzone. Największy stopień odchylenia ocen dla natężenia danej cechy na skali bipolarnej dotyczył słoności, następnie konsystencji i barwy na przekroju. Pozostałe cechy oceniane były jako „S”. Wędliny podrobowe oceniane za pomocą obu metod uzyskały wyniki pośrednie pomiędzy wymienionymi wyżej grupami wędlin.

#### Piśmiennictwo:

- [1] PN-ISO 4121:1998. Analiza sensoryczna – Metodologia – Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
- [2] PN-ISO 8589:1998. Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne projektowania pracowni analizy sensorycznej.



## ZMIANY ZAWARTOŚCI KWASU MLEKOWEGO I 3-HYDROKSYMASŁOWEGO W TRAKCIE PRZECHOWYWANIA JAJ INDYCZYCH W RÓŻNYCH TEMPERATURACH

### CHANGES IN CONTENTS OF LACTIC ACID AND 3-HYDROXYBUTYRIC ACID DURING STORAGE OF TURKEY EGGS AT DIFFERENT TEMPERATURES

Mirosław Michalski, Katarzyna Grądział-Krukowska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – PIB w Puławach, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mmichal@piwet.pulawy.pl

Produkcja jaj w Polsce w 2010 r. wyniosła 7,4 ton, tj. 10 881 mln szt. Ponad 90% wyprodukowanych jaj przeznacza się na cele spożywcze. Pozostałe 10% przeznaczają się na produkcję całych jaj, żółtka i białka w proszku oraz do produkcji masy jajowej mrożonej lub pasteryzowanej. Stężenie kwasu 3-hydroksymasłowego w suchej masie niezmodyfikowanego produktu jajecznego nie może przekraczać 10 mg/kg s.m., a kwasu L-mlekowego 1g/kg s.m. Dokonując pomiarów zawartości tych kwasów, można określić stan świeżości jaja i tym samym jego jakość zdrowotną.

**Cel badań:** Określenia dynamiki wzrostu zawartości kwasu mlekowego i 3-hydroksyhydroksymasłowego w przechowywanych jajach indyczych.

**Materiał i metody.** Świeże jaja (niezależone) były zakupione bezpośrednio na fermie. Jaja przechowywano w temperaturze „lodówkowej” (4°C), pokojowej (22°C) oraz w cieplarni (30°C). Okres przechowywania dla jaj indyczych wyniósł 12 tygodni. Oznaczanie kwasów L-mlekowego i 3-hydroksymasłowego wykonywano wg opracowanych procedur badawczych, metodą kolorymetryczną.

**Wyniki i omówienie:** Początkowa zawartość kwasu mlekowego w całym jaju wyniosła 167,41, a w żółtku 141,77 mg/kg s.m. Po 12 tygodniach przechowywania w temperaturach 4°C, 22°C, 30°C, zawartość kwasu w całym jaju i żółtku wynosiła odpowiednio 334,80, 113,22, 468,31 oraz 176,16, 334,8 i 259,21 mg/kg s.m. Po 12 tygodniach przechowywania zawartość kwasu L-mlekowego w całym jaju uległa ponad dwukrotnemu zwiększeniu niezależnie od temperatury magazynowania, a w żółtku nastąpił spadek jego ilości. W jednej próbce stwierdzono pojedyncze przekroczenie maksymalnej ilości kwasu mlekowego, tj. 1050,76 (mg/kg s.m.) po 4 tygodniach przechowywania. Początkowa zawartość kwasu 3-hydroksymasłowego w całej treści żółtka i jaja indyczego wyniosła odpowiednio 3,44 i 7,38 mg/kg s.m. Po 12 tygodniach przechowywania w temperaturach 4°C, 22°C, 30°C, zawartość tego kwasu w jaju i żółtku wynosiła odpowiednio 6,57 i 6,81, 13,49 i 7,95 oraz 35,28 i 10,54 mg/kg s.m. W całej treści jaja i żółtka po 12 tygodniach przechowywania w temp. 4°C zaobserwowano spadek zawartości kwasu masłowego. W jajach/żółtkach przechowywanych w temperaturze pokojowej (22°C) nie nastąpiła istotna zmiana zawartości kwasu mlekowego. W temp. 30°C zaobserwowano ponad 10-krotny wzrost zawartości kwasu masłowego w treści jaja i około 50% wzrost zawartości w żółtku. Na 32 wyniki oznaczeń przekroczenie dopuszczalnej zawartości kwasu 3-hydroksymasłowego stwierdzono w 7 próbkach. Przekroczenie maksymalnie dopuszczalnej zawartości kwasu nastąpiło już po 4 tygodniach przechowywania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Grądział-Krukowska K., Michalski M.: 2011. Zmiany zawartości kwasów L-mlekowego i 3-hydroksymasłowego w jajach kurzych podczas przechowywania w różnych temperaturach. *Życie Wet.* 86, 809–811.
- [2] Littmann S., Schulte E., Acker L., 1982. Beurteilung des hygienischen Zustands von Eiprodukten vor der Pasteurisierung über das Muster der organischen Säuren I. Gaschromatographische Methode zur gleichzeitigen Bestimmung der organischen Säuren des Hühnereis, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 175, 101–105.



## ZAWARTOŚĆ WAPNIA I FOSFORU W MIĘSIE WIEPRZOWYM ODKASTNIANYM MECHANICZNIE (MOM) UZYSKANYM TECHNIKĄ NIENARUSZAJĄCĄ STRUKTURY KOŚCI I TECHNIKĄ WYSOKOCIŚNIENIOWĄ

### CONTENTS OF CALCIUM AND PHOSPHORUS IN MECHANICALLY SEPARATED PORK MEAT (MSM) PRODUCED BY USING TECHNIQUES THAT DO NOT ALTER THE STRUCTURE OF THE BONES AND HIGH PRESSURE TECHNOLOGY

Mirosław Michalski

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mmichal@piwet.pulawy.pl

Mięso odkostnione mechanicznie z kości dużych zwierząt rzeźnych (MOM) daje możliwość optymalnego wykorzystania wszystkich elementów i części zwierząt uzyskiwanych podczas rozbioru. Surowcem do pozyskiwania MOM są kości pozostałe po wykrawaniu mięsa z tusz lub elementów, ogony wieprzowe, końcówki kończyn, ścięgna i tkanki łącznej. W czasie produkcji techniką wysokociśnieniową (niszczącą strukturę kości) podnosi się temperatura MOM, co stanowi dodatkowe zagrożenie mikrobiologiczne. Nowocześniejszą i bardziej bezpieczną metodą pozyskiwania MOM jest stosowanie technik nienaruszających struktury kości zwaną również techniką niskociśnieniową. Zawartość wapnia w mięsie odkostnionym mechanicznie uzyskanym za pomocą metod nienaruszających struktury kości, określona w rozporządzeniu (WE) nr 2074/2005, nie może przekraczać 0,1% (100 mg/100 g lub 1000 ppm) świeżego produktu. Nie ma wymagań w stosunku do MOM uzyskiwanego technikami wysokociśnieniowymi. Również nie ma określonych limitów zawartości fosforu dla MOM.

**Cel pracy:** Określenie zawartości wapnia i fosforu w MOM wieprzowym, wyprodukowanym za pomocą metod nienaruszających struktury kości i ich naruszającą (wysoko- i niskociśnieniowa metoda). Pozwoli to dokonać właściwej oceny sanitarno-weterynaryjnej i selekcji MOM przeznaczonego do produkcji wyrobów mięsnych klasyfikowanych do poddania obróbce cieplnej.

**Materiał i metody:** Materiałem do badań były próbki MOM uzyskanego za pomocą techniki niskociśnieniowej na urządzeniach typu Bader i techniką wysokociśnieniową. Próbki pochodziły z jednego zakładu. Surowcem do produkcji były kości porozbiorowe wieprzowe, karkowe i pokrsepowe. Produkcji MOM dokonano bezpośrednio po rozbiorze półtuszy. Próbki były pobierane w obecności lekarza weterynarii w trakcie produkcji i dostarczane do Zakładu Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego w formie zamrożonej lub świeże, transportowane w warunkach chłodniczych, w termotorbach z wkładem mroźniczym. Zawartość wapnia w mięsie odkostnionym mechanicznie oznaczano zgodnie z normą PN-A-86522:1992, a zawartość fosforu wg PN-A-82060:1987.

**Wyniki i omówienie:** Średnia zawartość wapnia (18 próbek) dla techniki niskociśnieniowej wyniosła  $0,11 \pm 0,05\%$ , a w 8 przypadkach stwierdzono ponadnormatywną zawartość tego pierwiastka, to jest powyżej 0,1%, co stanowi 44,4% analizowanych próbek. Należałoby zwrócić uwagę na stan techniczny urządzeń niskociśnieniowych. Dla MOM uzyskanego techniką wysokociśnieniową (18 próbek) średnia zawartość wapnia wyniosła  $0,15 \pm 0,05\%$ , przy czym 11 próbek zawierało wapń w ilości powyżej 0,1%, co stanowi 61,1%. Zawartość fosforu stwierdzono w ilości  $0,26 \pm 0,02$  i  $0,23 \pm 0,03\%$ , odpowiednio dla techniki wysoko- i niskociśnieniowej. MOM uzyskiwany technikami nienaruszającymi struktury kości jest bardziej bezpieczny dla konsumenta.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Michalski M., 2009. Zawartość wapnia w mięsie oddzielonym mechanicznie metodą tradycyjną (ciśnieniową) i techniką nieniszczącą struktury kości. Roczniki Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego, T. XLVII/1.
- [2] Michalski M., 2010. Zawartość białka, fosforu, tłuszczu, wody i popiołu w mięsie drobiowym oddzielonym mechanicznie (MDOM) techniką naruszającą strukturę kości. Polskie Drobiarstwo, XVIII, nr 9.



## WYSTĘPOWANIE *CAMPYLOBACTER SP.* U BROJLERÓW KURZYCH W WYBRANYCH RZEŻNIACH WOJEWÓDZTWA WARMIŃSKO-MAZURSKIEGO

### OCCURRENCE OF *CAMPYLOBACTER SPP.* IN CHICKEN BROILERS IN SLAUGHTERHOUSES IN WARMIA AND MAZURY REGION. POLAND

Marta Pastuszczak-Frańk, Małgorzata Gomółka-Pawlicka, Beata Wysok, Jan Uradziński

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn, e-mail: marta.pastuszczak@uwm.edu.pl

Wśród drobnoustrojów wywołujących zatrucia pokarmowe jednym z najczęściej występujących patogenów jest *Campylobacter species*.

**Cel pracy:** Określenie częstotliwości występowania bakterii rodzaju *Campylobacter* na terenie wybranych rzeźni województwa warmińsko-mazurskiego.

**Materiał i metody:** Materiał do badań bakteriologicznych stanowiły wymazy pobrane od brojlerów kurzych: z gardła bezpośrednio przed ubojem, z powierzchni tuszek po patroszeniu i po schłodzeniu oraz próbki dwunastnicy i jelita ślepego oraz próbki ze schładzalnika wodnego. Ogółem zbadano 928 próbek pochodzących z czterech ferm brojlerów kurzych, ubijanych w rzeźniach na terenie województwa warmińsko-mazurskiego. Badania w kierunku *Campylobacter sp.* prowadzono zgodnie z metodyką zawartą w PN – ISO 10 272: Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania termotolerancyjnych bakterii rodzaju *Campylobacter*.

**Wyniki i omówienie:** W wyniku przeprowadzonych badań okazało się, iż drobnoustroje z rodzaju *Campylobacter* najczęściej były stwierdzane w wymazach z gardła kurcząt żywych bezpośrednio przed ubojem jesienią (100%), a najrzadziej zimą (27,8%, w jelicie ślepym i dwunastnicy najczęściej latem i jesienią (100%), najrzadziej zimą (16,6%), w wymazach z powierzchni tuszek przed schłodzeniem najczęściej latem (75%), najrzadziej zimą (29,16%), w wymazach z tuszek po schłodzeniu najczęściej latem (52,0%) najrzadziej zimą (20%) oraz w wodzie ze schładzalnika wodnego najczęściej latem i jesienią (100%), najrzadziej zimą (66,6%).

Należy także stwierdzić, że najczęściej *Campylobacter spp.* izolowane były z próbek pobieranych w rzeźni, pochodzących od kurcząt brojlerów, u których wcześniej w próbkach pobieranych na terenie ferm wyizolowano wyżej wymienione drobnoustroje.

Podsumowując wyniki badań, częstotliwość izolacji bakterii z rodzaju *Campylobacter* zależna była od pierwotnego zakażenia żywych brojlerów kurzych, od rodzaju pobieranych próbek w rzeźni oraz od pór roku, w których wszystkie próbki były pobierane.





## PROFIL MIKROBIOLOGICZNY MIĘSA WIEPRZOWEGO

### ANALYSIS OF MICROBIAL COMMUNITY OF PORCINE MEAT

Magdalena Podkowiak, Paweł Krupa, Jarosław Bystróż, Jacek Bania

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: magdalena.podkowiak@up.wroc.pl

Określenie składu mikroflory żywności przy zastosowaniu metod opartych na hodowli może nie oddawać rzeczywistego obrazu mikrobiologicznego składu produktów spożywczych. Identyfikacja gatunkowa oparta jest zwykle na właściwościach biochemicznych, których ekspresja może być zróżnicowana, zależnie od szczepu, warunków hodowli czy fazy wzrostu drobnoustrojów, co może być przyczyną błędnych oznaczeń. Również zmiana warunków środowiskowych podczas przechowywania żywności prowadzi często do uszkodzenia komórek drobnoustrojów, uniemożliwiając ich hodowlę oraz identyfikację na poziomie gatunku i rodzaju. Zastosowanie technik opartych na bezpośrednim badaniu materiału genetycznego drobnoustrojów występujących w żywności, bez konieczności ich wcześniejszej hodowli, pozwala na ominięcie wielu z wyżej wymienionych niedogodności, umożliwiając szerszą i precyzyjniejszą identyfikację.

**Cel pracy:** Określenie składu mikroflory mięsa wieprzowego na podstawie analizy sekwencji fragmentu genu 16S rDNA, w DNA wyosobnionym bezpośrednio z badanego produktu.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły wycinki tkanki mięśniowej tusz wieprzowych, pobranych przed procesem wychładzania, o łącznej pow. 20 cm<sup>2</sup> i masie 100 g. Próbkę po zalaniu wodą peptonową inkubowano w temperaturze pokojowej z wytrząsaniem przez 10 minut, aby zebrać drobnoustroje z powierzchni mięsa. Z osadu uzyskanego po wirowaniu płynu izolowano DNA metodą fenolową. DNA użyto jako matrycy do PCR z zastosowaniem starterów flankujących fragment genu 16S rDNA o wielkości 492 pz. Otrzymane amplikony klonowano do wektora *pJET1.2/blunt*, którym transformowano szczepy *E. coli* DH5alfa. DNA z kolonii, które wyrosły w obecności ampicyliny, użyto jako matrycy do PCR z użyciem starterów flankujących miejsce klonowania w wektorze *pJET1.2*. Produkty PCR poddano sekwencjonowaniu i analizie z wykorzystaniem oprogramowania BioEdit oraz platformy BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Eksperyment był powtórzony dwukrotnie.

**Wyniki i omówienie:** Na podstawie analizy amplikonów otrzymanych z 40 kolonii *E. coli* zidentyfikowano 16 rodzajów/gatunków drobnoustrojów w mięsie wieprzowym:

Rodzaj/Gatunek	Liczba identyfikacji	Rodzaj/Gatunek	Liczba identyfikacji
1. <i>Psychrobacter sp.</i>	8	9. <i>Shewanella baltica</i>	1
2. <i>Pseudomonas sp.</i>	8	10. <i>Arthrobacter sp.</i>	1
3. <i>Brochotrix thermosphacta</i>	5	11. <i>Rothia sp.</i>	1
4. <i>Acinetobacter sp.</i>	4	12. <i>Delftia sp.</i>	1
5. <i>Flavobacterium sp.</i>	2	13. <i>Acidobacteria bacterium</i>	1
6. <i>E. coli</i>	2	14. <i>Photobacterium phosphoreum</i>	1
7. <i>Shigella sp.</i>	2	15. <i>Mesorhizobium sp.</i>	1
8. <i>Macrocooccus sp.</i>	1	16. <i>Streptococcus sp.</i>	1

Zastosowana technika badawcza pozwoliła ujawnić różnorodność składu mikroflory mięsa wieprzowego, w której dominowały bakterie saprofityczne (67,5%), z rodzaju: *Psychrobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* oraz *Brochotrix* odpowiedzialne za proces psucia się mięsa. 10% zidentyfikowanych gatunków stanowiły pałeczki okrężnicy oraz *Shigella sp.* 22,5% mikroflory stanowiły bakterie saprofityczne, bardzo rzadko identyfikowane przy wykorzystaniu klasycznych, rutynowych metod mikrobiologicznego badania żywności.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Schabereiter-Gurtner C., Maca S., Rölleke S., Nigl K., Lukas J., Hirschl A., Lubitz W., Barisani-Asenbauer T., 2001. 16S rDNA-Based identification of bacteria from conjunctival swabs by PCR and DGGE fingerprinting. Invest Ophthalmol. Vis. Sci., 42, 1164–1171.
- [2] Cocolin L., Dolci P., Rantsiou K., 2011. Biodiversity and dynamics of meat fermentations: The contribution of molecular methods for a better comprehension of a complex ecosystem. Meat Sci., 89, 296–302.





## BADANIA BIEGŁOŚCI LABORATORIÓW URZĘDOWYCH W ZAKRESIE MIKROBIOLOGII ŻYWNOSCI POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO

### PROFICIENCY TESTS OF OFFICIAL CONTROL LABORATORIES IN THE SCOPE OF FOOD MICROBIOLOGY OF ANIMAL ORIGIN

Remigiusz Pomykała, Magdalena Łopatek, Kinga Wieczorek, Jacek Osek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy (PIWet-PIB), Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: remigiusz.pomykala@piwet.pulawy.pl

Inspekcja Weterynaryjna (IW) jest jednym z organów urzędowej kontroli żywności w Polsce. Szeroki zakres kompetencji IW został określony w Ustawie z dnia 29 stycznia 2004 r. o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz. U. z 2004 r., Nr 33, poz. 287 z późn. zm.) i obejmuje ochronę zdrowia zwierząt, bezpieczeństwo produktów pochodzenia zwierzęcego oraz weterynaryjną ochronę zdrowia publicznego. Nadzór nad bezpieczeństwem żywności pochodzenia zwierzęcego zapewniony jest poprzez działalność weterynaryjnego systemu laboratoriów urzędowych, w skład którego wchodzi laboratoria Zakładów Higieny Weterynaryjnej (ZHW), Krajowe Laboratorium Referencyjne Zakładu Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego PIWet-PIB w Puławach (KRL) sprawujące nadzór nad jakością badań prowadzonych w laboratoriach urzędowych oraz laboratoria prywatne zatwierdzone przez Głównego Lekarza Weterynarii do przeprowadzania badań urzędowych. Na mocy zapisów Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady Nr 882/2004/WE (Dz. U. L 191 z 30.04.2004) Krajowe Laboratorium Referencyjne zobligowane jest do organizacji badań porównawczych pomiędzy krajowymi laboratoriami urzędowymi, a następnie do zapewnienia odpowiedniego późniejszego zastosowania takich badań. Laboratoria urzędowe zobowiązane są poddawać się badaniom porównawczym w zakresie stosowanych metod badawczych.

**Cel pracy:** Ocena wyników badań biegłości laboratoriów urzędowych w zakresie badań mikrobiologicznych żywności pochodzenia zwierzęcego.

**Materiał i metody:** Badania biegłości były organizowane zgodnie z wytycznymi dokumentów ISO/IEC 43-1:1997, ILAC-G13:08/2007, PN-EN ISO/IEC 17043:2010, ISO/TS 22117:2010, ISO 13528:2005. W latach 2006–2011 zorganizowano 23 rundy badań biegłości, w których uczestniczyło ponad 1200 laboratoriów. Obiektami wykorzystanymi w celu organizacji badań były: mięso wieprzowe, drobiowe i wołowe, surowe oraz wędzone ryby, wędliny i wymazy gąbkowe. Przygotowywane próbki do badań biegłości zawierały naturalnie obecną mikroflorę lub były zanieczyszczane drobnoustrojami docelowymi. Kierunki badań obejmowały parametry jakościowe i ilościowe, wymienione w kryteriach mikrobiologicznych bezpieczeństwa żywności i higieny procesu zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) Nr 2073/2005 (Dz. U. L 338 z 15.11.2005): wykrywanie *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, oznaczanie liczby drobnoustrojów tlenowych, *L. monocytogenes*, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, koagulazododatnich *Staphylococcus* spp. Próbkę do badań biegłości poddawano testom jednorodności i stabilności, a następnie transportowano do uczestników za pośrednictwem firmy kurierskiej w warunkach chłodniczych. Do oceny wyników badań wykorzystywano odporne procedury statystyczne, zgodnie z normą ISO 13528:2005. Wyniki badań ilościowych oceniano z wykorzystaniem wskaźników z lub z', kwalifikując je w kategoriach zadowolający/wątpliwy /niezadowolający, a wyniki badań jakościowych oceniano na zgodność z wynikiem przypisanym i kwalifikowano jako zgodny/niezgodny.

**Wyniki i omówienie:** Średni odsetek laboratoriów uzyskujących wyniki zgodne z przypisanymi w badaniach jakościowych wyniósł 88%. W kilku przypadkach laboratoria nie były zdolne wykryć drobnoustroju docelowego. W badaniach ilościowych 91% laboratoriów uzyskało wynik zadowolający. Tak znaczący odsetek wyników zadowolających w badaniach biegłości wskazuje na wysoką jakość badań wykonywanych przez laboratoria urzędowe, a poprzez to – na właściwy nadzór nad bezpieczeństwem żywności pochodzenia zwierzęcego w Polsce.

#### Piśmiennictwo:

- [1] PN-EN ISO/IEC 17043:2010 Ocena zgodności – Ogólne wymagania dotyczące badania biegłości.
- [2] ISO 13528:2005 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.



## BADANIA BIEGŁOŚCI LABORATORIÓW W ZAKRESIE HIGIENY MLEKA SUROWEGO W LATACH 2007–2011 W POLSCE – ORGANIZACJA I WYNIKI OCENY

### PROFICIENCY TESTING OF LABORATORIES FOR HYGIENE OF RAW MILK IN THE YEARS 2007–2011 IN POLAND – ORGANIZATION AND EVALUATION OF THE RESULTS

Jolanta G. Rola, Piotr Kostrzewa

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: jolarola@piwet.pulawy.pl*

**Wstęp:** Regularne uczestnictwo w badaniach biegłości dostarcza niezależnej weryfikacji kompetencji laboratorium w ramach kontroli zewnętrznej dla jednostek akredytujących, kontrolnych i klientów oraz jest jednym ze sposobów wewnętrznej kontroli laboratorium w ramach sterowania jakością badań.

**Cel pracy:** Przedstawienie zasad organizacji i wyników oceny badań biegłości laboratoriów badających mleko surowe.

**Materiał i metody:** Organizatorem badań biegłości w latach 2007–2011 w zakresie ogólnej liczby drobnoustrojów (OLD), komórek somatycznych (LKS) oraz pozostałości substancji przeciwbakteryjnych (SH) było Krajowe Laboratorium Referencyjne Zakładu Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego PIWet-PIB. Badania biegłości organizowano i prowadzono według Przewodnika ISO/IEC 43:1997, a następnie zgodnie z normą PN-EN ISO/IEC 17043:2011. W każdym roku przeprowadzano 2 rundy badań – jedna obejmowała metody instrumentalne OLD i LKS, druga metody nieinstrumentalne OLD i LKS, natomiast w obydwu rundach wykrywano SH. Próbkę do badań oraz ich ocenę (jednorodność, stabilność) wykonał organizator, przy badaniach ilościowych – początkowo opierając się na teście Cochran’a oraz teście F-Snedecora, a od 2009 r. na podstawie procedury zawartej w Aneksie B ISO 13528:2005, a do badań jakościowych dzięki wytycznym The Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories 2006. Na standardową procedurę oceny raportowanych przez uczestników wyników składało się wyznaczenie wartości przypisanej i jej niepewności, obliczenie statystycznych wskaźników charakteryzujących uzyskane rezultaty (Z-score i z'-score) oraz ocena osiągniętych rezultatów. Wyniki poddano analizie statystycznej z zastosowaniem zaleceń normy ISO 13528:2005.

**Wyniki i omówienie:** W latach 2007–2011 w badaniach biegłości brało udział w poszczególnych rundach od 67 do 94 laboratoriów. Odsetek wyników niezadowolających w przypadku LKS oznaczanych metodą fluoro-opto-elektroniczną i metodą mikroskopową nie przekraczał 10%. Przy oznaczaniu OLD odsetek ten dwukrotnie przekraczał poziom 10%. W przypadku metod instrumentalnych w maju 2009 r. wyniósł 20,59%, a dla metod hodowlanych 13,79% we wrześniu 2011 r. Natomiast odsetek wyników niezadowolających, tj. niezgodnych z wartością wyznaczoną do wykrywania substancji przeciwbakteryjnych przekraczał 20% przy erytromycynie, sulfametazynie i kloksacylinie, a we wrześniu 2008 r. wyniósł 62,75% w przypadku sulfametazyny. Z analizy niezadowolających wyników badań biegłości wynika, że obok uchybień laboratoriów, przyczyną takich rezultatów oceny była sprawność stosowanych metod, gdzie deklarowany przez producenta poziom wykrywania erytromycyny czy sulfametazyny był niższy niż rzeczywisty.

Podsumowując, badania biegłości mogą być wielce przydatnym narzędziem dla laboratoriów przeprowadzających walidację stosowanych metod, istotnie wspomagając proces ciągłego doskonalenia jakości pomiarów.



## JAKOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA SUROWEGO I PASTERYZOWANEGO MLEKA KOZIEGO I SERÓW

### MICROBIOLOGICAL QUALITY OF RAW AND PASTERIZED GOAT MILK AND CHEESES

Jolanta G. Rola, Monika Ostrowska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: jolarola@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** W ciągu ostatnich kilku lat w Europie i Polsce nastąpił wzrost zainteresowania mlekiem kozim, jego produkcją i przetwarzaniem. Jest to wynikiem nowych trendów żywieniowych oraz postrzegania mleka koziego i jego produktów jako ekologiczne, o wysokich walorach zdrowotnych, źródło wielu cennych składników odżywczych, stosowane szczególnie u ludzi wykazujących alergię na mleko krowie. Biorąc powyższe pod uwagę, tym bardziej ważna jest kontrola jakości mikrobiologicznej mleka koziego i jego przetworów, zwłaszcza pod kątem obecności drobnoustrojów patogennych oraz ocena skuteczności procesu pasteryzacji przy eliminacji tego zagrożenia.

**Cel pracy:** Ocena jakości mikrobiologicznej mleka koziego przed i po pasteryzacji oraz serów z mleka koziego gotowych do spożycia. Ponadto sprawdzono skuteczność obróbki cieplnej tych produktów.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w trzech seriach po ok. 20 próbek mleka koziego (łącznie 55 próbek). Próbkę pozyskano z 24 ferm w sezonie jesienno-zimowym na przełomie 2011/2012 r. Analizie poddano próbki mleka koziego surowego oraz po przeprowadzeniu procesu pasteryzacji w warunkach laboratoryjnych (temp.  $63^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  przez 30 min). Ocena dotyczyła również 46 próbek sera koziego pochodzących z handlu detalicznego. Badania obejmowały kierunki świadczące o higienie produkcji tj.: ogólną liczbę drobnoustrojów (wg PN-EN ISO 4833), liczbę *E. coli* (wg PN-ISO 16649-2), liczbę bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* (wg PN-ISO 21528-2) i liczbę gronkowców koagulazododatnich (wg PN-EN ISO 6888-2). Analiza obejmowała także kierunki wskazujące na bezpieczeństwo żywności, tj. obecność *Salmonella* spp. (wg PN-EN ISO 6579) i *Listeria* spp. (VIDAS LMO II, bioMerieux).

**Wyniki:** Ogólna liczba drobnoustrojów wynosiła od  $2,3 \times 10^3$  do  $4,9 \times 10^7$  jtk/ml we wszystkich badanych próbkach mleka surowego. Po procesie pasteryzacji liczba drobnoustrojów znacznie spadła i wynosiła od  $0,5 \times 10^0$  do  $6,0 \times 10^3$  jtk/ml. Obecność *E. coli* stwierdzono w 36 (65%) próbkach mleka surowego na poziomie zanieczyszczenia od  $0,5 \times 10^0$  do  $3,7 \times 10^2$  jtk/ml. Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* wykryto we wszystkich próbkach mleka na poziomie od  $0,5 \times 10^0$  do  $5,5 \times 10^6$  jtk/ml. Liczba gronkowców koagulazododatnich wynosiła od  $0,5 \times 10^0$  do  $1,2 \times 10^4$  jtk/ml i dotyczyła 37 (67%) badanych próbek mleka surowego. W próbkach mleka po pasteryzacji nie wykryto żadnego z ww. drobnoustrojów, co potwierdza skuteczność obróbki cieplnej, tj. redukcję liczby drobnoustrojów aż do ich eliminacji. W badanych próbkach mleka surowego jak i po pasteryzacji nie wykryto obecności *Salmonella* spp. Natomiast w 7 (13%) próbkach mleka surowego obecna była *Listeria monocytogenes*, której nie wykryto w mleku poddanym procesowi pasteryzacji. W badanych serach ogólna liczba drobnoustrojów mieściła się w zakresie od  $1,5 \times 10^2$  do  $2,2 \times 10^9$  jtk/g. Nie stwierdzono jednak obecności gronkowców koagulazododatnich, *E. coli*, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp. i *Listeria* spp.

**Wnioski:** Ogólna liczba drobnoustrojów w przypadku 21 (38%) próbek mleka surowego była wyższa niż dopuszczalny limit określony w Rozporządzeniu (WE) Nr 853/2004. W mleku surowym stwierdzono także drobnoustroje patogene, tj. *L. monocytogenes*. Proces pasteryzacji eliminował to zagrożenie i zredukował znacznie poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Mikrobiologiczna jakość serów gotowych do spożycia była zgodna z wymaganiami Rozporządzenia (WE) Nr 2073/2005.



## WYSTĘPOWANIE GRONKOWCÓW KOAGULAZODODATNICH W SUROWYM MLEKU KOZIM I ICH ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ

### OCCURRENCE OF STAPHYLOCOCCI IN RAW GOAT MILK AND THEIR ANTIBIOTIC RESISTANCE

Jolanta G. Rola, Marek Próchniak

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, e-mail: jolarola@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Gronkowce są bakteriami powszechnie występującymi w środowisku ludzi i zwierząt. Szacuje się, że od 10 do 50% populacji ludzkiej jest stałymi lub okresowymi bezobjawowymi nosicielami tych drobnoustrojów. Wiele gatunków gronkowców wchodzi w skład normalnej mikroflory człowieka, jednakże szczepy chorobotwórcze stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Wywołują one m.in. zapalenia gruczołu mlekowego u bydła i owiec (*mastitis*), zapalenia stawów, skóry oraz tkanek miękkich, jak również infekcje układu moczowego i oddechowego. Ponadto stanowią jeden z czynników etiologicznych zakażeń krwi (posocznica). Gronkowce są dużym problemem w szpitalach, gdzie każdego roku są przyczyną znacznego odsetka zgonów. Najgroźniejszymi spośród gronkowców są metycylinooporne szczepy *Staphylococcus aureus* (MRSA). Szczepy te wykazują oporność nie tylko na metycylinę, ale również na pozostałe antybiotyki beta-laktamowe, takie jak: penicyliny, monobaktamy, cefalosporyny, penemy, karbapenemy, co powoduje trudności w diagnostyce i leczeniu chorób przez nie wywołanych.

**Cel pracy:** Ocena występowania koagulazododatnich gronkowców w surowym mleku kozim, a także określenie ich wrażliwości na antybiotyki, określenie typów antybiotykooporności oraz identyfikacja szczepów MRSA.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 55 próbek mleka koziego, z których na przełomie 2011 i 2012 r. wyizolowano 51 szczepów gronkowców koagulazododatnich. Określono stopień zanieczyszczenia próbek zgodnie z PN-EN ISO 6888-2. Przynależność gatunkową oznaczono testem API ID 32 STAPH. Metodą MIC (minimal inhibitory concentration) określono ich antybiotykooporność na 11 wybranych chemioterapeutyków (chloramfenikol, ciprofloksacyna, erytromycyna, florenikol, gentamycyna, penicylina, streptomycyna, sulfonamidy, tetracyklina, trimetoprim, cefoksytyna). Dodatkowo zróżnicowano szczepy na MRSA i MSSA techniką PCR na podstawie detekcji genu *mecA* oraz metodą płytkową z zastosowaniem podłoża chromogenego CHROM ID MRSA agar (bioMerieux).

**Wyniki:** Uzyskane rezultaty wykazały, że w 73% przebadanych próbek stwierdzono obecność koagulazododatnich gronkowców, z czego 94% stanowiły szczepy *S. aureus*. Liczba gronkowców w pozytywnych próbkach wynosiła od 0,5 do 12455 jtk/ml. Najwięcej badanych szczepów było opornych na sulfonamidy (20%) i penicylinę (18%). Wszystkie izolaty były wrażliwe na florfenikol, erytromycynę, gentamycynę oraz ciprofloksacynę. Najczęściej występującym antybiotykotypem był typ A – wrażliwy na wszystkie badane antybiotyki (57%). Drugim co do częstotliwości występowania był typ D – oporny tylko na sulfonamidy (18%). Zarówno metodą płytkową, jak i PCR wszystkie badane szczepy zaklasyfikowano jako MSSA.

**Wnioski:** W ponad połowie zbadanych próbek mleka surowego koziego stwierdzono obecność koagulazododatnich gronkowców. *Staphylococcus aureus* był najczęściej identyfikowanym gatunkiem spośród izolowanych gronkowców. Wyizolowane szczepy były w większości wrażliwe na działanie wszystkich badanych antybiotyków. Najwięcej izolatów wytworzyło mechanizm oporności na działanie sulfonamidów oraz penicyliny. W związku ze stosowaniem antybiotykoterapii w leczeniu *mastitis* oraz potencjalnym ryzykiem wystąpienia zakażeń gronkowcami po spożyciu żywności – istnieje dalsza potrzeba badania szczepów izolowanych z żywności pochodzenia zwierzęcego.





## WPŁYW SPOSOBU PRZYGOTOWANIA PRÓBKII NA WYNIK OZNACZANIA AKTYWNOŚCI FOSFATAZY ALKALICZNEJ W SERACH METODĄ FLUORYMETRYCZNĄ

### THE INFLUENCE OF SAMPLE PREPARATION ON THE RESULT OF DETERMINATION OF ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY IN CHEESES BY FLUOROMETRIC METHOD

Jolanta G. Rola, Maciej Sosnowski

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, e-mail: jolarola@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Metodą oceny skuteczności pasteryzacji mleka i produktów mlecznych jest fluorometryczny pomiar aktywności fosfatazy alkalicznej (ALP) według PN-EN ISO 11816-2. Zasada metody oparta jest na reakcji hydrolizy substratu zwanego Fluorophos (fosforan 2'-[2-benzotiazolilo]-6'-hydroksybenzotiazolowy), pod wpływem ALP pochodzącej z próbki na resztę fosforanową oraz silnie fluorescencyjny produkt. Zgodnie z powyższą procedurą do przygotowania próbki sera stosuje się mleko pozbawione ALP. Alternatywą w przygotowaniu próbki może być bufor do ekstrakcji sera zaproponowany przez producenta fluorometru (Advanced Instruments), który ma gwarantować lepsze wydobycie ALP związanej w micelach tłuszczu.

**Cel pracy:** Porównanie i określenie wpływu na wynik analizy aktywności ALP dwóch sposobów przygotowania próbki do analizy aktywności ALP: z użyciem mleka pozbawionego fosfatazy alkalicznej i buforu do ekstrakcji sera. Jednocześnie uwzględniono wpływ matrycy: mleko krowie – mleko kozie.

**Materiał i metody:** Materiał stanowiło 155 próbek serów (53 próbki sera z mleka koziego pasteryzowanego, 62 – z mleka krowiego pasteryzowanego, 40 – z mleka krowiego surowego). Próbki do badania przygotowano równolegle z użyciem dwóch rozcieńczalników: mleka pozbawionego fosfatazy alkalicznej oraz buforu do ekstrakcji sera. Mleko pozbawione ALP otrzymano przez ogrzewanie mleka surowego w łaźni wodnej w 95°C przez 5 min. Bufor do ekstrakcji sera w swym składzie zawierał: dietanoloaminę, azydek sodu, tetra hydrat octanu magnezu i niejonowy surfaktant – Triton X-100. Oznaczenia aktywności ALP wykonano zgodnie z PN-EN ISO 11816-2:2005.

**Wyniki:** Sery wyprodukowane z mleka pasteryzowanego wykazały aktywność fosfatazy alkalicznej na poziomie poniżej 10 mU/g, przy czym dla większości próbek była ona wyższa w przypadku serów z mleka krowiego (średnio 1,09 mU/g; odchylenie standardowe – Sd = 1,25 mU/g) w porównaniu z serami z mleka koziego (średnio 0,82 mU/g; Sd = 0,45 mU/g). W próbkach serów z mleka pasteryzowanego krowiego stwierdzono średnio o 18,3% wyższą aktywność ALP w przypadku ich przygotowania z użyciem buforu do ekstrakcji sera niż mleka pozbawionego ALP. Sery z mleka pasteryzowanego koziego, w większości przypadków, wykazały natomiast wyższą średnio o 39,7% aktywność ALP po zastosowaniu jako rozcieńczalnika mleka pozbawionego ALP. Sery z mleka krowiego niepoddanego obróbce cieplnej charakteryzowały się aktywnością ALP w granicach 66,9–11925,6 mU/g, przy czym średnia aktywność wyniosła 2635,8 mU/g (Sd = 2214mU/g). Przygotowanie próbki z użyciem buforu do ekstrakcji sera skutkowało wynikiem oznaczenia ALP na wyższym średnio o 21,0% poziomie.

**Wnioski:** W zależności od rodzaju mleka, z jakiego wyprodukowano ser, uzyskano różny efekt oznaczenia aktywności ALP podczas zastosowania dwóch rozcieńczalników do przygotowania próbki. Wyższy stopień wydobycia enzymu i oznaczenia jego aktywności zaobserwowano w przypadku użycia buforu do ekstrakcji sera dla serów z mleka krowiego (pasteryzowanego i surowego), natomiast użycie mleka pozbawionego fosfatazy było bardziej efektywnym sposobem w przypadku serów z mleka koziego. Zróżnicowanie wyników w odniesieniu do rodzaju mleka mogło być spowodowane różnicą w składzie chemicznym mleka krowiego i koziego oraz wyprodukowanych z nich serów.





## WYSTĘPOWANIE SZCZEPÓW *CAMPYLOBACTER* SPP. W MIĘSIE KONSUMPCYJNYM ORAZ OCENA ICH WRAŻLIWOŚCI NA WYBRANE ANTYBIOTYKI

### THE OCCURENCE AND SUSCEPTIBILITY OF *CAMPYLOBACTER* STRAINS ISOLATED FROM RETAIL MEAT

Renata Szewczyk, Magdalena Łopatek, Kinga Wieczorek, Jacek Osek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: renata.koza@piwet.pulawy.pl

Termotolerancyjne bakterie z rodzaju *Campylobacter* należą do najczęściej izolowanych czynników zatruc po-karmowych pochodzenia bakteryjnego występujących u ludzi. Jak wynika z raportu Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) opublikowanego w marcu 2011 r., dotyczącego występowania chorób od-zwierzęcych w krajach członkowskich Unii Europejskiej, kampylobakterioza jest nadal, począwszy od 2005 r. najczęściej rejestrowaną zoonozą. Liczba potwierdzonych przypadków zachorowań wyniosła w 2009 r. 198 252 (o 4% więcej niż w 2008 r.). W większości przypadków chorobę wywołują *C. jejuni* lub *C. coli*, rzadziej *C. lari* czy *C. upsaliensis*. Najważniejszym źródłem zakażeń jest spożycie nieodpowiednio przygotowanego mięsa drobiowego lub jego przetworów.

**Cel badań:** Ocena występowania *Campylobacter* spp. w mięsie zwierząt rzeźnych dostępnych w handlu oraz oznaczenie oporności izolatów na wybrane antybiotyki.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło mięso drobiowe, wołowe oraz wieprzowe dostępne w handlu, nabywane w lokalnych sklepach. Termotolerancyjne *Campylobacter* spp. izolowano zgodnie z procedurą opisaną w PN-EN ISO 10272-1:2007+Ap1:2008 „Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Campylobacter* spp. Część 1: Metoda wykrywania.” Do identyfikacji gatunkowej *Campylobacter* spp. zastosowano opracowany własny test multiplex m-PCR 1, pozwalający różnicować *C. jejuni* i *C. coli* poprzez amplifikację konserwatywnych regionów odpowiednich genów, flankujących gen *16S rRNA*, obecnego u izolatów obu oznaczanych gatunków *Campylobacter* oraz umożliwiających identyfikację genów *mapA* i *ceuE*, typowych odpowiednio dla *C. jejuni* i *C. coli*. Ponadto, dla wyizolowanych szczepów, za pomocą metody najmniejszych stężeń hamujących (MIC), określono wrażliwość wobec wybranych antybiotyków: chloramfenikolu, ciprofloksacyny, erytromycyny, gentamycyny, kwasu nalidyksowego, streptomycyny oraz tetracykliny.

**Wyniki i omówienie:** W 2011 r. przebadano ogółem 179 próbek mięsa dostępnego w handlu, spośród nich 110 stanowiło mięso drobiowe, 41 wołowe i 28 wieprzowe. W 91 (50,8%) próbkach stwierdzono obecność termofilnych drobnoustrojów, wszystkie dotyczyły mięsa drobiowego. Analiza PCR wykazała, że 56 próbek dodatnich było zanieczyszczonych *C. coli* (61,5%), a pozostałe *C. jejuni* (35 próbek; 38,5%). Zbadano również profil antybiotykooporności *Campylobacter* spp. wyizolowanych z próbek mięsa. Stwierdzono, że żaden z badanych szczepów nie był oporny na gentamycynę, erytromycynę i chloramfenikol. Nie stwierdzono większych różnic w oporności na poszczególne czynniki przeciwbakteryjne w zależności od badanych gatunków *Campylobacter*, z wyjątkiem tetracykliny, gdzie liczba szczepów *C. coli* opornych na ten antybiotyk była większa w porównaniu z *C. jejuni* (*C. coli*: 27 izolatów; *C. jejuni*: 10). Przeprowadzone badania wykazały, że wszystkie szczepy *C. jejuni* były oporne na kwas nalidyksowy i ciprofloksacynę.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Anonymous, 2011. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. EFSA Journal 9, 2090.
- [2] Wieczorek K., Osek J., 2005. Testy multiplex do równoczesnej identyfikacji *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli*. Med. Wet., 61, 797–799.



## WYBÓR MODELU MATEMATYCZNEGO PRZEŻYWALNOŚCI *SALMONELLA ENTERITIDIS* W MLEKU SPOŻYWCZYM

### SELECTION OF MATHEMATICAL MODEL TO CALCULATE THE LIFE CYCLE OF *SALMONELLA ENTERITIDIS* IN MILK

Joanna Szteyn, Agnieszka Wiszniewska-Łaszczych, Katarzyna Liedtke,  
Elżbieta Bednarko-Młynarczyk

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, e-mail: szteyn@uwm.edu.pl

Modele matematyczne określające wzrost, przeżywalność lub inaktywację drobnoustrojów w żywności mogą być wykorzystywane zarówno do określenia celów operacyjnych (PO<sup>1\*</sup>) na poziomie przedsiębiorstwa, jak i poziomu ochrony zdrowia publicznego jaki ma być osiągnięty w kraju (ALOP<sup>2\*</sup>). Liczba czynników, które w żywności mogą wpływać na drobnoustroje, jest duża. Określenie reakcji mikroorganizmów na te czynniki umożliwia przewidywanie ich zachowania na podstawie wykonanych wcześniej badań. Ze względu na niewielką liczbę modeli prognostycznych opartych na badaniach przeżywalności bakterii w produktach spożywczych, a nie w podłożach bakteryjnych, podjęto próbę zbadania wybranych czynników przeżywalności *Salmonella enteritidis* w mleku spożywczym, poddanym różnej obróbce cieplnej.

**Materiał i metody:** Przedmiotem badań było mleko pasteryzowane 2% i UHT 2% zakupione w sklepie detalicznym. Próbkę mleka w objętości 1000 ml kontaminowano hodowlą bulionową trzech szczepów *S. enteritidis*, wyizolowanych z próbek żywności, wcześniej wykonując badania w kierunku obecności wymienionego rodzaju drobnoustrojów. Uzyskano wstępną koncentrację komórek *S. enteritidis* na poziomie 10<sup>3</sup>–10<sup>4</sup> jtk/ml mleka. Kontaminowane próbki mleka przechowywano w temperaturach: 5, 10, 15, 20, 25°C. Oznaczenia liczby jtk *Salmonella* w próbkach przechowywanych w temperaturze; 20 i 25°C dokonywano co 3 godziny, w 15°C co 6 godzin, a w 10 i 5°C dwunastokrotnie w różnym czasie przez odpowiednio 10 i 33 dni. Uzyskane wyniki z każdej badanej próbki zestawiono w arkuszach kalkulacyjnych, odnotowując: czas przetrzymywania w określonej temperaturze, wyniki pomiaru pH w różnym czasie przechowywania, rozcieńczenie próbki, w której uzyskiwano policzalną liczbę jtk na podłożu BGA, liczbę wyrosłych kolonii, średnią liczbę kolonii z 5 powtórzeń, log jtk/ml produktu. Zamieszczone dane w arkuszach kalkulacyjnych pozwoliły na wykreślenie krzywych wzrostu *Salmonelli* w wymienionych powyżej produktach i utworzenie pierwszorzędowych modeli przeżywalności, co jest warunkiem koniecznym do utworzenia drugorzędowych modeli kinetyki wzrostu.

**Wyniki i omówienie:** W próbkach mleka UHT przechowywanych w temp 20°C, podobnie jak w próbkach przechowywanych w 25°C następował szybki wzrost liczby komórek już po 3 godzinach przechowywania. Wzrost ten był mniej intensywny w próbkach mleka pasteryzowanego, ale też wyraźny i w obu produktach następował aż do 27 godzin przechowywania, po czym następowała faza stacjonarnego wzrostu. W temp. 15°C przechowywania próbek mleka pasteryzowanego i mleka UHT obserwowano 6 godz. fazę lag, a następnie powolny wzrost liczby bakterii *Salmonella* aż do 96 godz. przechowywania, po którym następowała faza stacjonarna. W próbkach mleka przechowywanych w temp 10°C czas wzrostu wydłużył się do 5 dni, a faza stabilnego wzrostu trwała tydzień, po czym następował, do 10. dnia przechowywania, powolny spadek jtk/ml. Wzrost i redukcja liczby komórek *S. enteritidis* w temp. 5°C trwały najdłużej, co spowodowało konieczność wydłużenia okresu przechowywania próbek mleka i badania wzrostu bakterii do 33 dni. Wykorzystane modele pierwszorzędowe nieliniowe: logistyczny, Gompertza i Baranyi wykazały zróżnicowane dopasowanie do danych empirycznych. Najlepsze dopasowanie wykazał model logistyczny w niskich temperaturach, natomiast w temperaturach 15°C i powyżej model Gompertza.

<sup>1\*</sup> PO – Performance Objective, <sup>2\*</sup> ALOP – Appropriate Level of Protection



## MIKROSTRUKTURA KOŚCI PRZEPIÓRKI THE MICROSTRUCTURE OF QUAIL BONE

**Tkachuk Svetlana Alimivna**

*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, department Veterinary-Sanitarian Examination Kiev, Ukraine vul. Polkovnyka Potyekhina, 16 Ukraine: 03041 ohdin@ukr.net*

Stwierdzono, że u 150-dniowych, starszych przepiórek mogą wystąpić aktywne procesy osteogenezy. Od 150. do 350. dnia po urodzeniu kość zbita przyjmuje swoją ostateczną formę.



## PYŁEK ROŚLIN ZMODYFIKOWANYCH GENETYCZNIE JAKO SKŁADNIK ŻYWNOSCI

## POLLEN OF GENETICALLY MODIFIED CROPS AS A FOOD INGREDIENT

Michał Tracz, Agnieszka Jackowska-Tracz

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: [michal\\_tracz@sggw.pl](mailto:michal_tracz@sggw.pl)

Akapit pierwszy art. 2. rozporządzenia nr 178/2002 zawiera ogólną definicję żywności, zgodnie z którą „żywność” oznacza jakiegokolwiek substancje lub produkty, przetworzone, częściowo przetworzone albo nieprzetworzone przeznaczone do spożycia przez ludzi lub których spożycia przez ludzi można racjonalnie się spodziewać. Zgodnie z tym samym rozporządzeniem „składnik” oznacza każdą substancję, włącznie z dodatkami, użytą przy wytworzeniu lub przygotowywaniu środka spożywczego i nadal obecną w produkcie końcowym, nawet w zmienionej formie. Zgodnie z powyższym i dyrektywą 2001/110 pyłek jest traktowany jako normalny nieusuwalny składnik miodu. W przypadku miodu obecność pyłku jest zwykłą konsekwencją procesu produkcji, świadomego i zamierzonego, którego celem jest wyprodukowanie żywności zakwalifikowanej przez prawo Unii jako miód.

Miód zawierający pyłek pochodzący z roślin genetycznie zmodyfikowanych prowadzi do problemu interpretacyjnego. Czy miód taki należy uznać za żywność genetycznie zmodyfikowaną w myśl rozporządzenia 1829/2003 i objąć go obowiązkiem zatwierdzenia, czy może obecność ta jest przypadkowa i nie powoduje powstania takiego obowiązku.

W prawie żywnościowym Unii Europejskiej jak i w prawie polskim znajdują się definicje szczególnych rodzajów żywności. Jednym z takich rodzajów żywności jest żywność genetycznie zmodyfikowana, czyli taka, która zawiera, składa się lub wyprodukowana jest z organizmów genetycznie zmodyfikowanych (GMO). Kryterium wydzielenia kategorii żywności genetycznie zmodyfikowanej z podstawowej definicji żywności jest zastosowanie technik inżynierii genetycznej podczas wytwarzania żywności lub jej składników. Zgodnie z intencją rozporządzenia 1829/2003 „żywność genetycznie zmodyfikowana to żywność wytworzona z GMO, a nie żywność z zawartością GMO”. Z tego względu ustalono próg zawartości GMO, po przekroczeniu którego żywność będzie traktowana jako genetycznie zmodyfikowana. Za genetycznie zmodyfikowaną nie uznaje się żywności wyprodukowanej za pomocą genetycznie zmodyfikowanych środków wspomagających przetwarzanie; ze względu na to, że środki wspomagające przetwarzanie uczestniczą w procesie wytwarzania żywności, ale nie wchodzą w jej skład. Wspomniany próg procentowej zawartości GMO w żywności wynosi 0,9%. Progową zawartość 0,9% ustala się w odniesieniu do pojedynczego składnika genetycznie zmodyfikowanej żywności. Trybunał Sprawiedliwości Unii Europejskiej w sprawie C-442/09 z dnia 6 września 2011 r. orzekł, że produkty takie jak miód zawierający pyłek pochodzący z roślin genetycznie zmodyfikowanych stanowią „żywność zawierającą składniki wyprodukowane z GMO”. Kwalifikację tę można przyjąć niezależnie od tego, czy dodanie substancji było zamierzone, czy przypadkowe.

**Wnioski:** Każda żywność, w skład której wchodzi miód zawierający pyłek pochodzący z roślin genetycznie zmodyfikowanych, powinna być traktowana jako żywność genetycznie zmodyfikowana.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Trybunał Sprawiedliwości Unii Europejskiej, sprawa Nr C-442/09 Karl Heinz Bablok i inni przeciwko Freistaat Bayern, 6 września 2011 r. Luxemburg.
- [2] Tracz M., 2010. Środki prawne nadzoru i organy administracji rządowej sprawujące nadzór nad organizmami genetycznie zmodyfikowanymi stosowanymi w żywieniu zwierząt. *Med. Wet.*, 66 (12), 805–809.



## WYSTĘPOWANIE *YERSINIA ENTEROCOLITICA* O:9 W PRÓBKACH KAŁU OD KRÓW REAGUJĄCYCH DODATNIO W SEROLOGICZNEJ DIAGNOSTYCE BRUCELOZY

## PRESENCE OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* O:9 IN STOOL SAMPLES ORIGINATED FROM BRUCELLA SEROLOGICAL POSITIVE CATTLE

Marcin Weiner, Wojciech Iwaniak, Krzysztof Szulowski

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii – Krajowe Laboratorium Referencyjne Brucelezy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mpweiner@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Bruceleza jest groźną zoonozą wywoływana przez drobnoustroje z rodzaju *Brucella*. Jest to zakaźna i zaraźliwa choroba, na którą podatne są wszystkie zwierzęta gospodarskie, towarzyszące oraz wolno żyjące. Diagnostyka brucelezy oparta na badaniach serologicznych (OA, OKAP, OWD, OME, ELISA) regulowana jest Instrukcją Głównego Lekarza Weterynarii Nr GIWz.401/BB-16/2010 z dnia 30 listopada 2010 r. w sprawie postępowania przy podejrzeniu, potwierdzeniu i zwalczaniu oraz przy prowadzeniu badań kontrolnych brucelezy oraz zharmonizowanymi przepisami polskimi i UE (Dyrektywa Rady 64/332/EWG). Z danych literaturowych oraz z badań własnych wynika, że z powodu reakcji krzyżowych powodowanych przez drobnoustroje posiadające identyczną budowę antygenową, takich jak *Yersinia enterocolitica* O:9, część wyników dodatnich w odczynach serologicznych jest rezultatem reakcji krzyżowych a przez to rzeczywisty odsetek zwierząt reagujących specyficznie w kierunku brucelezy może być znacznie niższy.

**Cel pracy:** Określenie występowania pałeczek *Yersinia enterocolitica* O:9 w próbkach kału krów reagujących dodatnio w serologicznych odczynach brucelezy.

**Materiał i metody:** W pracy użyto referencyjnych szczepów pałeczek *Brucella abortus*, *B. melitenis*, *B. ovis* i *B. suis* oraz szczepów *Yersinia enterocolitica* należących do serotypów O:3, O5,27, O:8, O:9. W toku prowadzonych badań poddano ocenie kał pochodzący od bydła reagującego dodatnio w odczynach serologicznych w kierunku brucelezy (n=53), jednocześnie zbadano wycinki narządów od tych zwierząt, jak również przebadano kał bydła zdrowego (n=249). Badania bakteriologiczne w kierunku identyfikacji pałeczek *Y. enterocolitica* wykonano przy użyciu wytycznych zawartych w PN-EN ISO 10273:2005 „Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania przypuszczalnie chorobotwórczych *Yersinia enterocolitica*” w modyfikacji własnej, polegającej na zastosowaniu „zimnej hodowli” materiału w bulionie PSB w temp. 2–8°C przez 14 dni. Równolegle hodowano badany materiał w zmodyfikowanym bulionie ITC, zawierającym w stosunku do podstawowego składu 80% zieleni malachitowej, chlorku magnezu (ITCII), w temp. 25°C przez 48 godz. Następnie, po przepłukaniu w 0,25% KOH w 0,5% roztworze chlorku sodu celem eliminacji mikroflory towarzyszącej, przenoszono hodowlę na pożywki stałe z agarem CIN i inkubowano w temp 29–30°C przez 48 godz. Charakterystyczne kolonie identyfikowano testem API20E oraz w przypadku klasyfikacji do gatunku *Y. enterocolitica*, badano testem mPCR, w kierunku obecności genu *per*, charakterystycznego wyłącznie dla grupy serologicznej *Y. enterocolitica* O:9, jak również 16S rRNA typowego dla pałeczek *Brucella*.

**Wyniki i omówienie:** W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono obecność genu *per*, typowego dla *Y. enterocolitica* O:9 w 2 próbkach pochodzących od bydła zdrowego. Gdy do badań użyto próbek pochodzących od zwierząt serologicznie reagujących w kierunku brucelezy (n=53), uzyskano cztery wyniki dodatnie w teście PCR oraz zostało to potwierdzone w badaniach bakteriologicznych. Nie wykazano natomiast amplikonu 16S rRNA typowego dla pałeczek *Brucella* w żadnej z przebadanych próbek zarówno pochodzących od zwierząt zdrowych, jak i podejrzanych o brucelezę. Występowanie pałeczek *Y. enterocolitica* O:9 u zdrowego bydła jest stosunkowo rzadkie i wynosi odpowiednio 0,8%, natomiast w przypadku próbek pochodzących od zwierząt reagujących dodatnio w kierunku brucelezy odsetek ten jest znacznie wyższy i wynosi 9,4%. Z tego względu powiązanie występowania pałeczek *Y. enterocolitica* O:9 z wystąpieniem reakcji krzyżowych w diagnostyce brucelezy jest jak najbardziej uzasadnione.





## DIAGNOSTYKA BRUCELOZY BYDŁA I ŚWIŃ NA PODSTAWIE TECHNIK KLASYCZNYCH ORAZ FPA

### DIAGNOSIS OF *BRUCELLOSIS* IN CATTLE AND PIGS WITH SEROLOGICAL TESTS AND FPA ASSAY

Marcin Weiner, Krzysztof Szulowski, Wojciech Iwaniak

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii – Krajowe Laboratorium Referencyjne Brucelozy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mpweiner@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Brucelozą jest groźną zoonozą wywołowaną przez drobnoustroje z rodzaju *Brucella*. Najważniejsze znaczenie epizootyczne mają *B. abortus* (bydło), *B. suis* (świnie), *B. melitensis* (owce i kozy) oraz *B. ovis* (owce). Do infekcji dochodzi najczęściej poprzez kontakt zwierząt z chorymi lub zakażonymi osobnikami. Źródłem zakażenia jest pasza albo ściółka zanieczyszczona wodami płodowymi oraz wyciekami z narządów rodnych. Diagnostyka brucelozy oparta jest na badaniach serologicznych (OKAP, OA, OWD, OAG, OME, ELISA). Z powodu reakcji krzyżowych powodowanych przez drobnoustroje mające podobną budowę antygenową do pałeczek *Brucella*, takich jak *Yersinia enterocolitica* O:9 lub *E. coli* O157:H7, istnieją uzasadnione podejrzenia, że część wyników dodatnich może być rezultatem reakcji krzyżowych. Z drugiej strony, bakteriologiczne badania potwierdzające, trwają do 6 tygodni, wymagają odpowiedniego wyposażonego i zabezpieczonego laboratorium klasy BSL3 oraz zachowania najwyższych środków bezpieczeństwa. Z tego względu wciąż trwają poszukiwania nowych metod diagnostycznych, pozwalających na wykrycie brucelozy we wszystkich stadiach zakażenia, eliminacji reakcji krzyżowych oraz szybkich i tanich w wykonaniu. Do metod tych zaliczyć można rekomendowany przez OIE odczyn fluorescencji w świetle spolaryzowanym (fluorescence polarization assay, FPA).

**Cel pracy:** Zastosowanie FPA do badania surowic bydła i świń w kierunku brucelozy i porównanie uzyskanych wyników z klasycznymi technikami serologicznymi stosowanymi w diagnostyce brucelozy u tych gatunków zwierząt.

**Materiał i metody:** Do badań użyto 400 surowic bydła oraz 215 pochodzących od świń. Surowice zostały podzielone na 3 grupy: surowice ujemne, uzyskane od zwierząt zdrowych i reagujące ujemnie w pozostałych odczynach serologicznych, surowice dodatnie, pochodzące z europejskich laboratoriów referencyjnych brucelozy oraz z własnej kolekcji i surowice z badań potwierdzających w kierunku brucelozy, nadesłane do PI-Wet-PIB w latach 2008–2011. W badaniach użyto zestawu diagnostycznego *Brucella abortus* antibody test kit *Brucella* FPA (Diachemix, USA) zgodnie z instrukcją producenta. Za wynik ujemny uznawano te surowice, których wartości mP były <10 od średniej kontroli negatywnej, za podejrzone, mieszczące się w przedziale 10–20 mP a za dodatnie, których wartość mP wynosiła >20.

**Wyniki i omówienie:** W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że surowice pochodzące od zwierząt zdrowych, ujemne w klasycznych odczynach serologicznych, reagowały także ujemnie w metodzie FPA. Surowice pochodzące od zwierząt uznanych za zakażone, reagujące dodatnio w odczynach serologicznych takich jak OA, OKAP, OWD wykazywały wartości mP przekraczające 20 mP powyżej średniej negatywnej i zostały uznane za dodatnie w metodzie FPA.

Z kolei surowice nadesłane do badań w celach potwierdzających od zwierząt stwarzających najczęściej problemy diagnostyczne, uznawane za fałszywie dodatnie w diagnostyce brucelozy, w przypadku próbek pochodzących od bydła, jedynie w dwóch przypadkach dały wynik dodatni w odczynie FPA. Jedną z tych próbek była dodatnia w odczynie OA i OKAP, druga – wyłącznie w OA. Znacznie bardziej złożona sytuacja przedstawia się w przypadku badań surowic świń metodą FPA. Wśród 215 przebadanych próbek 111 dało wynik dodatni w teście FPA. Probki te były jednocześnie dodatnie w jednym (n=24), dwóch (n=12) oraz więcej niż dwóch (n=75) klasycznych odczynach serologicznych. Mając na względzie powyższe, należy uznać, że metoda FPA może znaleźć zastosowanie do diagnostyki serologicznej próbek pochodzących od bydła, natomiast w przypadku trzody chlewnej, gdzie występowanie reakcji krzyżowych jest znacznie częstsze – potrzebne są dalsze, bardziej szczegółowe badania celem oceny przydatności testu FPA w diagnostyce brucelozy świń.



## OPRACOWANIE TESTU MULTIPLEX PCR DO IDENTYFIKACJI *YERSINIA ENTEROCOLITICA* O:9, *ESCHERICHIA COLI* O157 ORAZ *BRUCELLA* SPP.

### DEVELOPMENT OF A MULTIPLEX PCR FOR AN IDENTIFICATION OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* O:9, *ESCHERICHIA COLI* O157 AND *BRUCELLA* SPP.

Marcin Weiner, Jolanta Złotnicka, Wojciech Iwaniak, Krzysztof Szulowski

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii – Krajowe Laboratorium Referencyjne Brucelozy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mpweiner@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Diagnostyka brucelozy oparta jest głównie na badaniach serologicznych, takich jak OA, OKAP, OWD, OME, ELISA oraz w przypadku uzyskania wyniku dodatniego – na badaniach bakteriologicznych. Z powodu reakcji krzyżowych powodowanych przez drobnoustroje mające identyczną budowę antygenową do pałeczek *Brucella*, takich jak *Y. enterocolitica* O:9 oraz *E. coli* O157, istnieją uzasadnione podejrzenia, że część wyników dodatnich w odczynach serologicznych może być rezultatem reakcji krzyżowych.

**Cel pracy:** Opracowanie testu multiplex PCR pozwalającego na jednoczesną identyfikację markerów typowych dla pałeczek *Brucella* (gen *16S rRNA*), *Y. enterocolitica* grupy O:9 (gen *per*), jak również *E. coli* O157 (gen *rfbO157*).

**Materiał i metody:** Do opracowania testu użyto następujących szczepów referencyjnych – *B. abortus* bv. 1,2, 3, 4, 5, 6, 9, *B. melitensis* bv. 1, 2, 3, *B. suis* bv. 1, 2, 3, 4, 5, *B. ovis*, *B. canis*, *B. neotomae* oraz należące do pałeczek *Yersinia*: *Y. enterocolitica* O:8, *Y. enterocolitica* O:9/biotyp 2, *Y. enterocolitica* O:3/biotyp 4, *Yersinia enterocolitica* O:5,27 jak również *E. coli* O157:H7 (EDL933). Próbkę węzłów chłonnych (1 g) inokulowano referencyjnymi szczepami tych bakterii. Równocześnie z badaniami molekularnymi wykonano badania bakteriologiczne w kierunku obecności badanych drobnoustrojów w inokulowanym materiale. Reakcję multiplex PCR, umożliwiającą identyfikację genów charakterystycznych dla *Yersinia enterocolitica* O:9, *E. coli* O157 oraz *Brucella* spp. wykonywano w mieszaninie zawierającej matrycowy DNA, 10 x skoncentrowany bufor enzymatyczny, 2 U termostabilnej polimerazy Taq (Fermentas), 200  $\mu$ M dNTP, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, specyficzne startery oligonukleotydowe per-12 oraz per-14 dla genu *per* (0,1  $\mu$ M), F4 i R2 dla *16S rRNA* (0,05  $\mu$ M), PF8 i PR8 dla *rfbO157* (0,1  $\mu$ M) oraz wodę do końcowej objętości 50  $\mu$ l. Amplifikacje przeprowadzano w termocyklerze T3 (Biometra) według następujących parametrów: denaturacja wstępna 95°C (5 min), następnie 30 cykli – 95°C (1 min) 60°C (1 min) oraz 72°C (1 min). Końcowy etap wydłużania wykonano w 72°C (5 min).

**Wyniki i omówienie:** Brucelozą jest groźną zoonozą wywoływana przez drobnoustroje z rodzaju *Brucella*. Jest to zakaźna i zaraźliwa choroba, na którą podatne są wszystkie zwierzęta gospodarskie, towarzyszące oraz wolno żyjące. Opracowany test multiplex PCR umożliwia jednoczesną identyfikację *Yersinia enterocolitica* O:9 na podstawie obecności genu *per*, którego amplifikowana sekwencja występuje wyłącznie u *Yersinia* należących do grupy serologicznej O:9, pałeczek *Brucella* należących do następujących gatunków: *B. abortus* (biotypy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9), *B. melitensis* (biotypy 1, 2, 3), *B. ovis*, *B. suis* (biotypy 1, 2, 3, 4, 5), *B. canis* i *B. neotomae*. oraz *E. coli* O157. W trakcie pracy oceniano specyficzność testu, używając do tego szczepów *Yersinia enterocolitica* należących do innych niż O:9 grup serologicznych i w żadnym przypadku nie wykazano obecności amplikonu o wielkości 312 pz charakterystycznego dla genu *per* grupy O:9, jak również produktu o wielkości 905 pz charakterystycznego dla wszystkich badanych w pracy pałeczek *Brucella* ani produktu o wielkości 420 pz typowego dla markera *rfbO157*. Ponadto, w żadnym z badanych szczepów *Brucella* nie wykazano obecności genu *per*, typowego dla *Yersinia enterocolitica* O:9. W trakcie prowadzonych badań określono również czułość testu – wyraźne prążki uzyskiwano przy inokulacji węzłów chłonnych w ilości 10<sup>3</sup> jtk/g drobnoustrojów referencyjnych. Opracowany test przyczyni się do udoskonalenia obecnie stosowanych metod diagnostycznych oraz, dzięki eliminacji wyników fałszywie dodatnich, umożliwi weryfikację sytuacji epizootycznej i pozwoli na rzeczywistą ocenę występowania brucelozy w Polsce.



## WPŁYW TEMPERATURY NA OKRES REDUKCJI *SALMONELLA ENTERITIDIS* W TWAROGACH KWASOWYCH

### INFLUENCE OF TEMPERATURE FOR REDUCTION TIME OF *SALMONELLA ENTERITIDIS* IN FRESH WHITE CHEESE

Agnieszka Wiszniewska-Łaszczych, Joanna Szteyn, Elżbieta Młynarczyk-Bednarko, Katarzyna Liedtke

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego ul. Oczapowskiego 14, 10-917 Olsztyn, e-mail: aga@uwm.edu.pl

Zatrucia i zakażenia pokarmowe występują na całym świecie i stanowią duży problem epidemiologiczny. Od wielu lat główną przyczyną masowych i sporadycznych zatruc pokarmowych u ludzi w Europie są pałeczki *Salmonella*. Z raportów EFSA wynika, że ponad 30% wszystkich epidemii pokarmowych wywołanych było przez żywność zanieczyszczoną *Salmonella spp.* Jedną z grup żywności odnotowaną jako przyczyna zakażeń pokarmowych wywołanych przez pałeczki *Salmonella* jest mleko i jego przetwory.

**Cel pracy:** Określenie wpływu temperatury przechowywania sztucznie zakażonych twarogów kwasowych na redukcję *Salmonella enteritidis*.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowił ser twarogowy kwasowy tłusty i chudy produkowany w jednym z zakładów mleczarskich. Przygotowane w sposób jałowy 25 g próbki kontaminowane były 20-godzinną hodowlą bakteryjną (mieszaniną hodowli szczepów wyizolowanych z żywności), tak aby osiągnąć wyjściowy poziom  $10^3$  jtk/g. Kontaminowane próbki przechowywane były w temperaturze 5, 10, 15, 20 i 25°C. W każdej z wymienionych temperatur przechowywano 15 próbek. Po określonym czasie, różnym w zależności od temperatury przechowywania produktu, oznaczano liczbę komórek *Salmonella* w 1 g produktu. Oznaczenia dokonano na podłożu BGA. Doświadczenie przeprowadzono w 5 powtórzeniach.

**Wyniki i omówienie:** W temperaturze 15, 20 i 25°C kontrola przeżywalności *Salmonella* przeprowadzana była co 3 godziny. Po 48 godzinach przechowywania w temperaturze 15°C oraz po 33 godzinach przechowywania w temperaturze 20 i 25°C w obu badanych twarogach zaobserwowano całkowitą redukcję *Salmonella enteritidis*. W temperaturze 10°C kontrola przeżywalności prowadzona była co 24 godziny. Wzrostu *Salmonella* w badanych próbkach twarogów nie zaobserwowano po 10 dobach. Najdłuższy czas przeżywalności *Salmonella enteritidis* zaobserwowano w temperaturze 5°C. Całkowitą redukcję pałeczek w badanych serach twarogowych odnotowano po 24 dobach przechowywania. Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują na związek temperatury z szybkością redukcji liczby *Salmonella enteritidis* w serach twarogowych. Bardzo ważną informacją z punktu widzenia bezpieczeństwa żywności, jest długa przeżywalność *Salmonella* w temperaturach chłodniczych (przechowywania -5°C i transportu -10°C). Wykorzystanie pasteryzacji mleka w procesie produkcji serów twarogowych skutecznie eliminuje możliwość zanieczyszczenia produktu gotowego drobnoustrojami patogennymi pochodzącymi z surowca, a jak wynika z badań własnych, ok. 3% surowca mlecznego zanieczyszczona jest pałeczkami *Salmonella enteritidis*. Istotne jest zatem przestrzeganie procedur GHP i GMP, które pozwolą na zminimalizowanie ryzyka wtórnego zanieczyszczenia produktu.



## ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ SZCZEPÓW *CAMPYLOBACTER* WYZOLOWANYCH OD DROBIU

### ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *CAMPYLOBACTER* STRAINS ISOLATED FROM POULTRY

Beata Wysok, Marta Pastuszczak-Frańk, Jan Uradziński

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn, e-mail: bea\_wysok@wp.pl

Szerokie występowanie *Campylobacter* sp. w populacji zwierzęcej niesie ze sobą ryzyko zanieczyszczenia produktów żywnościowych, a drób rzeźny stanowi jeden z najważniejszych rezerwuarów tego patogenu. Ponieważ dawka infekcyjna jest stosunkowo niska, wynosząca od 5 do 500 komórek, do zakażenia ludzi dochodzi stosunkowo łatwo i często. Większość przypadków kampylobakteriozy u ludzi nie wymaga, poza uzupełnieniem płynów i elektrolitów, specjalnej terapii. W przypadku długotrwałych, ciężkich biegunek i wysokiej gorączki oraz stwierdzeniu obecności *Campylobacter* sp. we krwi, zalecana jest kuracja antybiotykowa. Jednakże niepokój lekarzy budzi rosnąca w ostatnich latach oporność na znane i powszechnie stosowane terapie.

**Cel badań:** Określenie wrażliwości szczepów *Campylobacter* wyizolowanych od drobiu wobec wybranych antybiotyków.

**Materiał i metody:** Ogółem badaniu poddano 100 szczepów *Campylobacter* sp.: 50 zostało wyizolowanych z kloaki brojlerów na fermach w początkowych okresach chowu oraz 50 pochodziło z wymazów z powierzchni tuszek. W pracy zastosowano metodę dyfuzyjno-krażkową w celu określenia wrażliwości na następujące antybiotyki: erytromycynę (15 µg), gentamycynę (10 µg), ciprofloksacynę (5 µg), ampicylinę (10 µg), tetracyklinę (30 µg), chloramfenikol (30 µg) oraz doksycyklinę (30 µg).

**Wyniki i omówienie:** Spośród zbadanych 50 szczepów *Campylobacter*, wyizolowanych z kloaki brojlerów na fermie, 33 (66%) było wrażliwych na ampicylinę, 32 (64%) na kwas nalidyksowy oraz 14 (28%) na ciprofloksacynę. Nie odnotowano oporności wobec erytromycyny, doksycykliny, tetracykliny, chloramfenikolu oraz gentamycyny. Z kolei wśród izolatów *Campylobacter* wyizolowanych z powierzchni tuszek brojlerów na terenie rzeźni 47 (94%) było wrażliwych na erytromycynę i chloramfenikol, 39 (78%) na doksycyklinę, 32 (64%) na tetracyklinę, 12 (24%) na kwas nalidyksowy oraz 11 (22%) na ciprofloksacynę. Jedynie wobec gentamycyny nie odnotowano szczepów opornych. W dostępnej literaturze często odnotowywany jest niski procent oporności wobec chloramfenikolu i gentamycyny [3]. W badaniach własnych wszystkie szczepy *Campylobacter*, zarówno wyizolowane od brojlerów na terenie fermy, jak i w rzeźni, były wrażliwe wobec gentamycyny. Z kolei, wobec chloramfenikolu oporność odnotowano jedynie u 3 (6%) szczepów *Campylobacter* wyizolowanych z powierzchni tuszek w rzeźni. Różne badania wskazują, że gentamycyna i chloramfenicol są skutecznymi terapiami w leczeniu zapalenia jelit wywołanego przez *Campylobacter* sp. u ludzi [2]. Odnotowany w badaniach własnych niski procent oporności wobec erytromycyny, na poziomie 3%, pozostaje w zgodzie z wynikami prezentowanymi przez innych autorów. Kos et al. [1] uzyskali 100% szczepów *C. jejuni* wrażliwych na ten antybiotyk. Odnotowywana niska oporność wobec erytromycyny wskazuje na jego stałą przydatność w zakażeniach *Campylobacter* species.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kos V.N., Keelan M., Taylor D.E., 2006. Antimicrobial Susceptibilities of *Campylobacter jejuni* Isolates from Poultry from Alberta, Canada. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 50: 778–780.
- [2] Li C.C., Chiu C.H., Wu J.L., Huang Y.C., Lin T.Y., 1998. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *coli* by using E-test in Taiwan. *Scand. J. Infect. Dis.*, 30:39–42.
- [3] Reina J., Ros M.J., Serra A., 1994. Susceptibilities to 10 antimicrobial agents of 1220 *Campylobacter* strains isolated from 1987 to 1993 from feces of pediatric patients. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 38, 2917–2920.





## GENOMICZNA I CYTOMETRYCZNA ANALIZA KOMÓREK SOMATYCZNYCH MLEKA KROWIEGO – ODPOWIEDŹ IMMUNOLOGICZNA GRUCZOŁU MLEKOWEGO W CYKLU LAKTACYJNYM

### GENOMIC AND CYTOMETRIC ANALYSIS OF BOVINE MILK SOMATIC CELLS – MAMMARY GLAND IMMUNOLOGICAL RESPONSE DURING LACTATION CYCLE

Joanna Zarzyńska<sup>1</sup>, Joanna Pławińska<sup>1</sup>, Krzysztof Słoniewski<sup>2</sup>, Magdalena Król<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa, e-mail: joanna\_zarzyńska@sggw.pl

<sup>2</sup>Polska Akademia Nauk, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt, Jastrzębiec, ul. Postępu 1, 05-552 Wólka Kosowska

<sup>3</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Fizjologicznych, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa

Technika izolacji komórek somatycznych z mleka jest jedyną metodą pozyskiwania komórek gruczołowych, która w przeciwieństwie do biopsji nie powoduje strat w wydajności mlecznej, nie stwarza żadnego ryzyka zakażenia oraz nie naraża zwierzęcia na cierpienie, zapewniając jednocześnie uzyskanie porównywalnych wyników badań. Wydzielina gruczołu mlekowego zawiera heterogenną populację komórek, różniącą się w zależności od opisywanego gatunku. Przeważają komórki układu immunologicznego, chroniące gruczoł mlekowy przed infekcjami. U bydła i kóz liczba komórek somatycznych (LKS) zmienia się w cyklu laktacyjnym. Izolując komórki somatyczne z mleka w trakcie trwania cyklu laktacyjnego, wykorzystano je jako materiał do badań genomicznych nad statusem fizjologicznym gruczołu mlekowego. Oceniono również zmiany % udziału poszczególnych sub-populacji komórek.

**Materiał i metody:** Obserwacjami objęto krowy-pierwiastki rasy polskiej, holsztyńsko-fryzyjskiej (min. 87,5% HF), utrzymywane w stadzie należącym do IGiHZ PAN w Jastrzębcu. Próby mleka do izolacji komórek somatycznych pobierano z ранego udoju (ręcznie oraz maszynowo), w ilości 1 litra. Od krów zdrowych (bez klinicznych objawów mastitis, SCC <250 x 10<sup>3</sup> /ml), w trakcie trwania cyklu laktacyjnego, w dniach 10., 60., 120. i 240. Ze wspomnianej próby pobierano ponadto próbkę mleka do analiz jego składu chemicznego oraz oznaczenia LKS. Metodę izolacji RNA z komórek somatycznych mleka krowiego oparto na metodzie prezentowanej w pracy Boutinaud i wsp. [2008], po modyfikacji własnej. Całkowite RNA, wykorzystano do wykonania analizy ekspresji genów przy użyciu mikromacierzy DNA profilowanych na genom bydłęcy. Subpopulacje komórek somatycznych obecnych w mleku krowim oznaczano za pomocą znakowania przeciwciałami (fluorescencyjnymi) przeciwko receptorom zewnątrz- i wewnątrzkomórkowym. Analiza była wykonywana przy użyciu cytometru przepływowego BD FACSAria Flow Cytometry System z sorterem.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach cytometrycznych potwierdzono obecność w izolowanej populacji komórek subpopulacji typowych dla mleka krowiego. Udział komórek epitelialnych był nieznaczny (na poziomie do 10%), natomiast najbardziej zmienną i przeważającą populacją były komórki polimorfonuklearne (PMNL). Typowe komórki biorące udział w odpowiedzi immunologicznej w gruczole mlekowym. Subpopulacje komórek wykazywały zmienność w cyklu laktacyjnym, komórki epitelialne i PMNL przeważały w późnej fazie laktacji. Do badań mikromacierzowych wykorzystano 4 punkty pobrań: dzień 10., 60., 120. i 240., a analizę przeprowadzono na zbiorczej puli RNA od 8 osobników w danej grupie badawczej oraz w drugim układzie doświadczalnym: porównanie profilu ekspresyjnego osobników wysoko (10–12 000) i nisko (6–8 000) wydajnych. Wykazano różnicę w ekspresji 513 genów na poziomie istotności p<0,005, z czego 313 genów o znanych funkcjach (137 genów regulowanych ujemnie i 176 regulowanych dodatnio) w układzie grupy 60, 120, 240 vs 10. Klastering genów zaobserwowano jedynie w grupie badanej 10, co pokrywa się z doniesieniami innych badaczy, iż początek laktacji znacząco różni się od innych faz. Geny wykazujące najwyraźniejsze zmiany w ekspresji zaangażowane były w procesy dotyczące zarówno komórek epitelialnych, jak i procesy immunologiczne zachodzące w gruczole mlekowym (43 geny zaangażowane w odpowiedź immu-





nologiczną): cykliny, katepsyny, integryny, czynniki migracji neutrofilii, PLK1, galektyna, kapaliny, SPHK1, geny szlaków sygnałowych cytokin, geny modulujące szlak insulinowy, transport glukozy, molekuly adhezyjne. Wiele genów zaangażowanych było w regulację procesu apoptozy. Nie wykryto istotnych statystycznie zmian w ekspresji genów pomiędzy badanymi grupami krów wysoko i nisko wydajnych – prawdopodobnie związane jest to z dość niewielkim zróżnicowaniem wydajności w badanym stadzie.

*Praca ta powstała w trakcie realizowania grantu MNiSW nr N N311 033834.*



## INAKTYWACJA PAŁECZEK *SALMONELLA* PRZY UŻYCIU OCTU JABŁKOWEGO

### INACTIVATION OF *SALMONELLA SPP.* WITH APPLE CIDER VINEGAR

Barbara Zdrodowska, Mieczysław Radkowski

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn, e-mail: barbara.zdrodowska@uwm.edu.pl

Konsumencki tryb życia społeczeństwa wymaga od producentów artykułów spożywczych wytwarzania produktów dobrych jakościowo i w atrakcyjnej cenie. Jest to przyczyną dodawania do żywności różnego rodzaju dodatków chemicznych w celu poprawienia wyglądu, konsystencji czy smakowości. Jednocześnie w siłę rośnie przekonanie, że najlepiej korzystać z naturalnych substancji, w głównej mierze pochodzenia roślinnego, które wykażą dużą skuteczność w hamowaniu rozwoju drobnoustrojów występujących w żywności.

**Cel badań:** Określenie wpływu stężeń octu jabłkowego na pałeczki *Salmonella* w podłożu agarowym oraz w mięsie brojlerów kurzych.

**Materiały i metody:** Doświadczenia wykonywano w dwóch etapach. W pierwszym etapie badano wpływ 0,001%, 0,005%, 0,01%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,1%, 0,3%, 0,5%, 0,75%, 1% stężeń octu jabłkowego w agarze odżywcym na pałeczki *Salmonella*. Badany szczep wsiewano do podłoża TSB (Tryptic Soy Broth) i po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C uzyskiwano hodowlę wyjściową do dalszych badań. Następnie wykonywano z tej hodowli dziesięciokrotne rozcieńczenia, wysiewano na agar odżywczy bez substancji chemicznych (kontrola) oraz na agar odżywczy z dodatkiem różnych ilości octu jabłkowego. W kolejnym etapie badania przeprowadzono na 50 próbkach tkanki mięśniowej z piersi brojlerów kurzych. We wstępnych badaniach przeprowadzonych na 10 próbkach nie stwierdzono obecności pałeczek *Salmonella*. Próbkę piersi brojlerów kurzych o masie 10 g zanurzano na 2 min w hodowli bakteryjnej o stężeniu  $10^8$  CFU/ml, po osuszeniu przez 20 min. w komorze laminarnej poddawano działaniu wody jałowej (kontrola) i 6% octu jabłkowego na 2, 5, 10, 15 min. Po przeniesieniu do naczynia z PBS (płyn fizjologiczny) mieszano przez 2 minuty i wykonywano dziesięciokrotne rozcieńczenia w zbuforowanej wodzie peptonowej do  $10^{-6}$ . Po 0,1 ml każdego rozcieńczenia przenoszono na podłoża XLD i BGA. Próbkę badano indywidualnie w kierunku obecności pałeczek *Salmonella*.

**Wyniki i omówienie:** Ocet jabłkowy w stężeniu 0,04% w agarze odżywcym całkowicie hamuje wzrost pałeczek *Salmonella*. W stężeniach 0,001%, 0,005%, 0,01% i 0,03% powoduje redukcję pałeczek *Salmonella* mniej niż o 2 cykle logarytmiczne. Na powierzchni mięsa brojlerów kurzych nie uzyskano całkowitego zahamowania wzrostu badanego drobnoustroju. Po zanurzeniu zakażonej próbki na 10 i 15 minut w 6% occie jabłkowym stwierdzono redukcję bakterii o 2 cykle logarytmiczne z poziomu  $4,6 \times 10^5$  CFU/ml w badaniu kontrolnym do  $5,1 \times 10^3$  CFU/ml po 10 minutach i  $3,1 \times 10^3$  CFU/ml po 15 minutach. Z przeprowadzonych badań własnych wynika, że istnieje możliwość unieszkodliwiania pałeczek *Salmonella* za pomocą octu jabłkowego.



## WYSTĘPOWANIE PAŁECZEK *SALMONELLA SPP.* U INDYKÓW RZEŹNYCH PO PROCESIE CHŁODZENIA

### PRESENCE OF *SALMONELLA SPP.* IN SLAUGHTER TURKEYS AFTER COOLING PROCESS

Barbara Zdrodowska, Mieczysław Radkowski

Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn, e-mail; barbara.zdrodowska@uwm.edu.pl

Badania przeprowadzone przez Stacje Sanitarно-Epidemiologiczne, w przypadkach zatruc pokarmowych wywołanych w naszym kraju przez pałeczki *Salmonella* w ostatnich latach wykazały, że największa liczba ognisk tej choroby jest związana ze spożywaniem potraw zawierających produkty drobiowe oraz jaja kurze nie poddane obróbce termicznej [2]. Podobne przyczyny zatruc pokarmowych notowano w innych krajach [1, 4]. W przypadku indyków z uwagi na to, że jaja indycze w niewielkich ilościach lub w ogóle nie są przeznaczone do celów konsumpcyjnych istotną rolę w epidemiologii zatruc pokarmowych pałeczkami *Salmonella* odgrywa mięso.

**Cel badań:** Poznanie stopnia rozprzestrzeniania się pałeczek *Salmonella* u indyków rzeźnych w wybranym punkcie obróbki poubojowej po procesie chłodzenia w zakładach drobiarskich.

**Materiał i metody:** W niniejszej pracy wykorzystano wyniki badań Wojewódzkiego Inspektoratu Weterynaryjnej w Olsztynie. Badania przeprowadzono na 230 próbkach indyków pochodzących z zakładów ubojowych znajdujących się na terenie województwa warmińsko-mazurskiego. Badania przeprowadzono w każdym miesiącu 2008 r. Wszystkie ptaki dowożone do miejsca uboju zostały uznane za zdrowe przez Inspekcję Weterynaryjną. Próby były pobierane bezpośrednio po zakończeniu procesu chłodzenia. Każda z nich była próbą zbiorczą, w której skład wchodziły wycinki skór z szyi trzech indyków. Z każdej tuszy pobierano kawałek skóry szyi o masie około 10 gramów. Za każdym razem próbki szyi skóry trzech tusz łączono przed badaniem dla uzyskania 25 gramów końcowych próbek. Identyfikację pałeczek *Salmonella* przeprowadzono według polskiej normy PN-EN ISO 6579:2003 [6].

**Wyniki i omówienie:** Na 230 próbek indyków pałeczki *Salmonella* wykryto w 18 (7,8%). Najniższy wskaźnik zanieczyszczenia indyków 2,8% miał miejsce, w I kwartale, a najwyższy 15,7% w III kwartale. W badanym okresie wyizolowano od indyków 3 serogrupy pałeczek *Salmonella*. Najczęściej izolowane były *Salmonella* z Gr. 0:4 (B), *Salmonella* z Gr. 0:7 (C1), *Salmonella* z Gr. 0:1,3,19 (E4). W ostatnich latach zostały przeprowadzone badania na indykach rzeźnych w różnych etapach obróbki poubojowej. Mikołajczyk i Radkowski [3] stwierdzili występowanie pałeczek *Salmonella* w pewnych miejscach częściej, w innych rzadziej, np. po oszołomieniu w 1%, po wytrzewianiu w 7%, przed schładzaniem w 15%, po schładzaniu 4%. Uzyskane wyniki nieco odbiegają od badań wspomnianych autorów. Procent występowania pałeczek *Salmonella* po procesie chłodzenia wyniósł w 2008 r. 7,8%, a więc był nieznacznie wyższy. Indyki rzeźne z linii uboju i obróbki poubojowej zanieczyszczone były w różnym stopniu pałeczkami *Salmonella*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Arsenault J. et al., 2007. Prevalence and risk factors for *Salmonella* and *Campylobacter* spp. carcass contamination in turkeys slaughtered in Quebec, Canada. J. Food Prot., 70 (6), 1350–1400.
- [2] Baumann M, i wsp., 2010. Zatrucia i zakażenia pokarmowe w Polsce w 2008 roku. Przegl. Epidemiol., 64, 205–212.
- [3] Mikołajczyk A., Radkowski M., 2002. The occurrence of *Salmonella* spp. in turkeys from a slaughter and after slaughter dressing line in Poland, Fleischwirtschaft International, 3, 52–54.
- [4] Meldrum J.R., Tucker D., Smith R.M., Edwards C., 2005. Survey of *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of whole, raw poultry on retail sale in Wales in 2003, J. Food Prot., 68, 1447–1451.
- [5] Orysiak P., Czarkowski M.P., Sadkowska-Todys M., 2010. Salmonellozy w 2008 roku, Przegl. Epidem., 64, 221–230.
- [6] PN-EN ISO 6579:2003 + A1:2007. Mikrobiologia żywności. Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp.



## WYSTĘPOWANIE PAŁECZEK *SALMONELLA* U KURCZĄT RZEŻNYCH OCCURENCE OF *SALMONELLA SPP.* IN SLAUGHTER CHICKENS

Zdrodowska Barbara, Radkowski Mieczysław

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn, e-mail: barbara.zdrodowska@uwm.edu.pl

W ostatnich latach w wielu krajach obserwuje się spadek przypadków zatruc pokarmowych wywołanych przez pałeczki *Salmonella*. W Polsce średnia roczna liczba zbiorowych zachorowań ludzi w roku 2010 osiągnęła 9 608 w porównaniu z 22 712 w 2000 r. [3], przy czym większość z nich wywołuje 5 serotypów: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Hadar* i *S. Infantis*, a w ostatnich latach na plan pierwszy wysunęła się *S. Enteritidis*, która występuje powszechnie u drobiu. Badania przeprowadzone przez Stacje Sanitarно-Epidemiologiczne, w przypadkach zatruc pokarmowych wywoływanych w naszym kraju przez pałeczki *Salmonella*, w ostatnich latach wykazały, że największa liczba ognisk tej choroby jest związana ze spożywaniem potraw zawierających produkty drobiowe oraz jaja kurze nie poddane obróbce termicznej [2, 4]. Mając na uwadze bezpieczeństwo konsumentów mięsa drobiowego, wprowadzono w Polsce „Krajowy program zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus Gallus*) na lata 2009–2011”. Wprowadzenie tych uregulowań ma zapewnić, że do uboju będą kierowane wyłącznie ptaki wolne od tych serotypów drobnoustroju.

**Cel badań:** Określenie częstotliwości występowania pałeczek *Salmonella* w mięsie kurcząt rzeźnych w sklepach na terenie województwa warmińsko-mazurskiego.

**Materiały i metody:** Materiał do badań stanowiły elementy drobiowe – skrzydła, udka zakupione w sklepach na terenie województwa warmińsko-mazurskiego. Identyfikację pałeczek *Salmonella* przeprowadzono zgodnie z polską normą ISO PN-EN ISO 6579:2003. Do potwierdzenia biochemicznego użyto testu API 20E (bioMerieux). W celu potwierdzenia wyników własnych wyizolowane szczepy wysłano do Krajowego Ośrodka *Salmonella* w Gdańsku.

**Wyniki i omówienie:** Serowarem najczęściej izolowanym z mięsa drobiowego ze sklepów w województwie warmińsko-mazurskim jest *Salmonella* Enteritidis (76,92%). Znacznie rzadziej występuje *Salmonella* Infantis (15,38%), a *Salmonella* Virchow (7,69%). W ciągu roku trwania badań największą częstotliwość wyników pozytywnych odnotowano w 2. i 3. kwartale, odpowiednio 15% i 11,7%, natomiast w miesiącach jesienno-zimowych częstotliwość występowania pałeczek *Salmonella* w mięsie brojlerów kurzych była znacznie mniejsza (2,5%). Z badań przeprowadzonych w innych krajach również wynika, że z mięsa drobiowego najczęściej izolowanymi serowarmi są *Salmonella* Enteritidis oraz *Salmonella* Infantis [1, 5]. Znaczny wzrost zachorowań ludzi po spożyciu mięsa drobiu zakażonego pałeczkami *Salmonella* wymusił w wielu krajach opracowanie programów zwalczania salmonelloz. Realizację ich powierzono służbom weterynaryjnym sprawującym nadzór nad fermami drobiu, transportem oraz przetwórstwem drobiu. Departament Weterynarii Ministerstwa Rolnictwa USA zwrócił uwagę, że najważniejszym warunkiem powodzenia programu zwalczania salmonelloz jest przerwanie łańcucha zakażeń pochodzących od drobiu.

### Piśmiennictwo:

- [1] Álvarez-Fernández E. et al., 2012. Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from poultry in Spain: Comparison between 1993 and 2006 International Journal of Food Microbiology, 153:3, 281–289.
- [2] Baumann A., i wsp., 2009. Zatrucia i zakażenia pokarmowe w Polsce w 2007 roku Przegląd Epidemiologiczny, 63, 213 – 220.
- [3] Orysiak P., i wsp., 2010. Salmonellozy w 2008 roku. Przegląd Epidemiologiczny, 64, 221–230.
- [4] Sadkowska-Todys M. i wsp., 2011. Salmonellozy w Polsce w 2009 roku. Przegląd Epidemiologiczny, 65, 243–250.
- [5] Wouafo M, et al., 2010. Prevalence and Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* serotypes in Chickens from Retail Markets in Yaounde (Cameroon) Microbial Drug Resistance, 16 (2): 171–176.



## ZAKAŻENIA PAŁECZKAMI *SALMONELLA* W FERMACH INDYKÓW RZEŹNYCH W WOJEWÓDZTWIE WARMIŃSKO-MAZURSKIM

### INFECTIONS WITH *SALMONELLA* SPP. AT SLAUGHTER TURKEY FARMS IN WARMINSKO-MAZURSKIE VOIVODSHIP POLAND

Barbara Zdrodowska, Mieczysław Radkowski

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-718 Olsztyn, e-mail: barbara.zdrodowska@uwm.edu.pl

W wielu krajach, m.in. Unii Europejskiej, opracowano kompleksowe programy administracyjnego zwalczania salmonelloz u drobiu i świń. Służby weterynaryjne UE wydały odpowiednie przepisy nakazujące państwom członkowskim zwalczanie zakażeń pałeczkami *Salmonella* przenoszonych przez żywność. Podstawowym aktem prawnym na terenie Europy od 17 listopada 2003 r. dotyczącym zwalczania salmonelloz u indyków stało się Rozporządzenie 2003/99 WE Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie monitorowania chorób odzwierzęcych i odzwierzęcych czynników chorobotwórczych. Mając na względzie bezpieczeństwo zdrowotne żywności pochodzenia zwierzęcego, w krajach Unii Europejskiej od 2007 r. wprowadzono program zwalczania zakażeń pałeczkami *Salmonella* u indyków. We wszystkich państwach członkowskich realizowane są krajowe programy zwalczania *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* w stadach indyków. Cel wspólnotowy oraz wytyczne dotyczące programu zostały ustanowione w rozporządzeniu Komisji (WE) Nr 584/2008 z dnia 30 czerwca 2008 r., wdrażającym rozporządzenie Nr 2160/2003 w odniesieniu do celu wspólnotowego ograniczenia powszechnego występowania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach hodowlanych indyków oraz zmieniającym Rozporządzenie 2160/2003 Parlamentu i rady z dnia 17 listopada 2003 r.

**Cel badań:** Przeanalizowanie zakażeń pałeczkami *Salmonella* na fermach indyków w województwie warmińsko-mazurskim w roku 2010.

**Materiał i metody:** W niniejszej pracy wykorzystano wyniki badań Wojewódzkiego Inspektoratu Weterynarii w Olsztynie w kierunku obecności pałeczek *Salmonella* w fermach indyków w województwie warmińsko-mazurskim. W roku 2010 w województwie warmińsko-mazurskim pobrano próbki z 1495 stad indyków rzeźnych, w których liczba indyków wynosiła 8 086 739. Próbkę z danego stada pobierano tylko raz w ciągu rocznego cyklu prowadzonych badań. Wiek indyków w stadach w momencie pobrania prób wynosił od 3 do 20 tygodni, średnio 15 tygodni. Liczebność stad wynosiła od 1300 do 23000 indyków, średnio 7555.

Wykrywanie pałeczek *Salmonella* w wymazach podeszwowych z powierzchni pomieszczeń na fermach indyków. Bładania przeprowadzono na 1495 próbkach wymazów podeszwowych pochodzących z ferm drobiu, znajdujących się na terenie województwa warmińsko-mazurskiego, w każdym miesiącu 2010 r. Termin pobrania próby zawsze obejmował okres 1–2 tyg. przed ubojem. Próbkę pobierano jako 2 wymazy podeszwo- we ze ściółki za pomocą tamponu umocowanego do podeszwy obuwia ochronnego, chodząc wzdłuż kurnika przez co najmniej 3 min. Po zakończeniu badania tampony były umieszczane w jałowych woreczkach lub probówkach zgodnie z zasadami aseptyki. Pobrane próbki były jak najszybciej dostarczane do laboratorium w temp. około 4°C. Identyfikację pałeczek *Salmonella* przeprowadzono według polskiej normy PN-EN ISO 6579:2003.

**Wyniki i omówienie:** W roku 2010 w województwie warmińsko-mazurskim na obecność pałeczek *Salmonella* przebadano 1145 ferm, w 18 fermach (1,57%) wykryto serotypy *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*, objęte programem zwalczania zakażeń pałeczkami *Salmonella*, a w 85 (7,42%) fermach stwierdzono obecność pałeczek *Salmonella* nie objętych programem. Częściej izolowanym serotypem w analizowanym okresie była *S. Typhimurium*, której obecność stwierdzono w 11 (0,96%) fermach, natomiast *S. Enteritidis* wykryto w 7 (0,6%) fermach. W badanym okresie wyizolowano 14 serowarów pałeczek *Salmonella*. Najczęściej izolowane były: *S. Virchow*, *S. Agona*, *S. Saintpaul*, *S. Kentucky*, *S. Derby*, *S. Hadar*, *S. Heidelberg*, *S. Newport*, *S. Bergany*, *S. Bredeney*, *S. Schwarzengrund*, *S. Senftenberg*, *S. Lexington*, *S. Chester*.





## SKŁAD MLEKA I WYDAJNOŚĆ KRÓW A OBECNOŚĆ PRZECIWCIAŁ ANTY-HYPODERMA

### MILK COMPOSITION AND COW PRODUCTIVITY IN THE PRESENCE OF ANTI-HYPODERMA ANTIBODIES

Elżbieta Bednarko-Młynarczyk, Agnieszka Wiszniewska-Łaszczych, Joanna Sztejn,  
Katarzyna Liedtke

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Weterynaryjnej Ochrony  
Zdrowia Publicznego, ul. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, e-mail: elzbieta.bednarko@uwm.edu.pl

Inwazje wywołane *Hypoderma spp.* są istotnym problemem w stadach bydła mlecznego, powodującym znaczne straty ekonomiczne. Ponoszą je nie tylko hodowcy, ale też przemysł mięsny i mleczarski.

**Cel badania:** Porównanie wydajności krów oraz zawartości podstawowych składników odżywczych w mleku zwierząt seropozytywnych, wątpliwych i seronegatywnych. Przeprowadzone badanie pozwoliło na określenie ekstensywności inwazji gzów bydlęcych na terenie północno-wschodniej Polski.

**Materiał i metody:** Do badań wytypowano 5 stad bydła mlecznego, będących pod kontrolą użytkowości mlecznej. Materiał do badań serologicznych stanowiły próbki mleka wymieniowego pobrane w lutym 2011 r. Obecność przeciwciał anty-Hypoderma określano, wykorzystując test ELISA (ELISA Bovine Hypodermosis Milk Screening, Institut Pourquier). Wydajność mleczną oraz procentową zawartość składników odżywczych mleka, tj: białka, tłuszczu i suchej masy określano, stosując metodę AT4. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej testem Kruskala-Wallisa, z wykorzystaniem pakietu STATISTICA 9.0 (StatSoft Inc., USA).

**Wyniki i omówienie:** Statystycznie istotne różnice stwierdzono pomiędzy średnimi wielkościami wydajności krów oraz zawartością białka w mleku zwierząt wykazujących odczyn dodatni. U sztuk serodatnych zaobserwowano 14% spadek wydajności mlecznej oraz 4% obniżenie zawartości białka w mleku w stosunku do zwierząt seronegatywnych. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic w zawartości tłuszczu i suchej masy.

Średnia ekstensywność inwazji gzów bydlęcych, w badanych stadach, wyniosła 28,24% i była bardzo zróżnicowana. Porównując uzyskane wyniki z opublikowanymi w 2001 r. [2] stwierdzono niższą ekstensywność inwazji w dwóch z pięciu badanych stad. Polepszenie warunków hodowli zwierząt i dostosowanie ich do wymagań prawnych obowiązujących gospodarstwa produkujące mleko może spowodować obniżenia ekstensywności inwazji. Wykazane różnice mogą być też tłumaczone zmianami w sposobie zarządzania stadem oraz różnymi warunkami pogodowymi.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Murtaz-ul H., Muhammad N.K., Muhammad A., Hafiz Muhammad W., Zafar I., H. Manzoor, 2010. Bovine hypodermosis-a global aspect, *Tropical Animal Health and Production*, 42:8, 1615–1625.
- [2] Cencek T., Ziomko I., 2001. Opracowanie zestawu diagnostycznego do wykrywania przeciwciał anty-Hypoderma bovis u bydła testem ELISA. II Ustalenie optymalnych terminów dla pobierania próbek krwi do badań w kierunku hypodermozy w różnych rejonach Polski, *Wiad. Parazytol.*, 47:3, 505–510.



## WPŁYW RÓŻNYCH SYSTEMÓW UTRZYMANIA KUR NIOSEK NA ZANIECZYSZCZENIE POWIERZCHNI JAJ KONSUMPCYJNYCH

### THE IMPACT OF THE VARIOUS SYSTEMS OF MAINTENANCE OF LAYING HENS ON THE SURFACE CONTAMINATION OF TABLE EGGS

Zbigniew Bełkot, Michał Gondek

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: zbigniew.belkot@up.lublin.pl

Powierzchnia jaja pochodzącego od zdrowej kury bezpośrednio po zniesieniu jest optycznie czysta, ale zawiera bakterie od  $10^4$  do  $10^7$  i pochodzą one z kloaki. Decydujący wpływ na dalszą jakość mikrobiologiczną powierzchni jaja mają środowisko kurnika, higiena utrzymania kur niosek, a także odpowiednie postępowanie w obrocie. Obecnie wg obowiązujących przepisów wyróżnić można cztery systemy utrzymania kur niosek: a) klatkowy – oznaczony symbolem „3”, b) ściółkowy – oznaczony symbolem „2”, c) wolno wybiegowy „1” oraz chów ekologiczny „0” dla kur pochodzących z certyfikowanych gospodarstw ekologicznych. Każdy z wymienionych systemów jest odmienny pod względem miejsca zniesienia jaja przez kurę (podłoga klatki – gniazdo), jak też długości przebywania w kurniku i styczności z czynnikami zewnętrznymi.

**Cel badań:** Określenie zanieczyszczenia bakteryjnego powierzchni jaj konsumpcyjnych w zależności od systemu utrzymania niosek.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono ogółem na 90 jajach, po 30 z każdej z trzech ferm stosujących różne metody chowu: klatkowy, ściółkowy i wolno wybiegowy. Jaja do badania pobierano bezpośrednio z kurnika z pominięciem etapu znakowania i pakowania do sprzedaży. Jaja po pobraniu płukano w płynie do rozcieńczeń. W badanym materiale oznaczono na  $1 \text{ cm}^2$  skorupy: ogólną liczbę bakterii tlenowych, liczbę bakterii proteolitycznych, psychrofilnych, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, paciorkowców kałowych, a także liczbę bakterii z rodzaju *Staphylococcus*. Wszystkie oznaczenia mikrobiologiczne przeprowadzono wg Polskich Norm PN-EN ISO 4833:2004, PN-A-82055-14:1997, PN-A-82055-7:1997, PN-EN ISO 6888-3:2004 i wskazań piśmiennictwa. Uzyskane wyniki przedstawiono w postaci logarytmu dziesiętnego. Wpływ poszczególnych czynników zmienności na oznaczane cechy określono opierając się na analizie wariancji, stosując test wielokrotnych przedziałów ufności T-Tukey'a. Istotność różnic pomiędzy badanymi cechami określono na poziomie  $p \leq 0,05$ . Wyizolowane zgodnie z powyższymi normami wybrane bakterie z rodzaju *Staphylococcus* oraz z rodziny *Enterobacteriaceae* poddano oznaczeniom biochemicznym analizatorem mikrobiologicznym MULTISKAN EX firmy Labsystems, z wykorzystaniem zestawów identyfikacyjnych STAPHY test 24 i ENTERO test – 24 przy użyciu programu do identyfikacji mikroorganizmów TNW.

**Wyniki i omówienie:** W przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że ogólna liczba bakterii tlenowych z systemu klatkowego wynosiła  $\log 4,95 \text{ jtk/cm}^2$ , ściółkowego  $\log 5,35 \text{ jtk/cm}^2$ , a z chowu na wolnym wybiegu  $\log 5,25 \text{ jtk/cm}^2$ . Zanieczyszczenie bakteryjne jaj z chowu klatkowego było istotnie niższe w porównaniu z jajami z pozostałych systemów, pomiędzy którymi brak było istotnych różnic. Podobna zależność miała miejsce w przypadku bakterii proteolitycznych – liczba bakterii wynosiła w systemie klatkowym  $\log 4,19 \text{ jtk/cm}^2$ , ściółkowym  $\log 4,71 \text{ jtk/cm}^2$ , wolno wybiegowym  $\log 4,72 \text{ jtk/cm}^2$ . Analizując zanieczyszczenie bakteriami psychrofilnymi w chowie klatkowym stwierdzono  $\log 3,66 \text{ jtk/cm}^2$ , wartość ta różniła się istotnie tylko w porównaniu z chowem ściółkowym  $\log 4,02 \text{ jtk/cm}^2$ , natomiast liczba bakterii psychrofilnych z chowu na wolnym wybiegu osiągnęła wartość pośrednią  $\log 3,92 \text{ jtk/cm}^2$  i nie różniła się istotnie statystycznie od pozostałych. Liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* wynosiła w przypadku chowu klatkowego  $\log 1,08 \text{ jtk/cm}^2$ , ze ściółkowego  $\log 0,65 \text{ jtk/cm}^2$ , zaś z wolno wybiegowego  $\log 1,64 \text{ jtk/cm}^2$ . Nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy systemem klatkowym i wolno wybiegowym, natomiast różnice te wystąpiły pomiędzy systemem ściółkowym a pozostałymi. Z kolei w przypadku zanieczyszczenia paciorkowcami kałowymi istotne różnice zauważono pomiędzy chowem klatkowym a pozostałymi. Liczba bakterii rodzaju *Enterococcus* wynosiła w przypadku chowu klatkowego  $\log 0,82 \text{ jtk/cm}^2$ , ściółkowego  $\log 3,10 \text{ jtk/cm}^2$ , a z chowu na wolnym wybiegu  $\log 2,34 \text{ jtk/cm}^2$ . Podobne zależności



stwierdzono też w ocenie zanieczyszczenia skorupy jaja bakteriami rodzaju *Staphylococcus*. Liczba gronkowców wynosiła w przypadku chowu klatkowego  $\log 2,73$  jtk/cm<sup>2</sup>, ściółkowego  $\log 4,58$  jtk/cm<sup>2</sup>, a z chowu na wolnym wybiegu  $\log 4,36$  jtk/cm<sup>2</sup>.

Badanie biochemiczne z użyciem STAPHY – test 24 wykazało obecność wielu różnych gronkowców, z których najczęściej izolowanymi były koagulazoujemne gatunki: *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus gallinarum* oraz koagulazododatni *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*.

Z kolei badania biochemiczne przy użyciu ENTERO – test 24 wskazały na wiele różnych gatunków z rodziny *Enterobacteriaceae*, wśród których najczęściej występowały: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Kluyvera acrobata*, *Enterobacter cloacae*, a także *Proteus mirabilis*.



## PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W TŁUSZCZU ŚRÓDMIĘŚNIOWYM KONI W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU I RODZAJU MIĘŚNI

### PROFILE OF FATTY ACIDS IN INTRAMUSCULAR FAT OF HORSE MEAT IN RELATION TO AGE AND KIND OF MUSCLES

Zbigniew Bełkot, Monika Maćkowiak-Dryka

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: zbigniew.belkot@up.lublin.pl

Rynek mięsa końskiego jest niewielki i stanowi ok. 0,4% mięsa produkowanego na świecie. Największym producentami mięsa końskiego są Chiny, Meksyk, Kazachstan, Mongolia i Argentyna. Polska produkuje rocznie od 80 do 100 tys. koni rzeźnych, co stanowi 30% produkcji UE. Konina ze względu na swe walory kulinarne najchętniej spożywana jest we Włoszech, Francji, Belgii, Holandii i Japonii. Praktycznie cała krajowa produkcja wysyłana jest na eksport, z czego 75% do Włoch, zaś pozostałe 25% do innych krajów europejskich. Mięso z polskich koni jest bardzo dobrej jakości, na co mają wpływ czystość środowiska oraz naturalny sposób żywienia zwierząt. Na jakość koniny wpływa wiele czynników, do których zaliczyć możemy wiek ubijanych zwierząt, klasę jakościową, rasę, typ użytkowy, sposób utrzymania, a także rodzaj poszczególnych wyrębów tuszy. Pod względem wartości odżywczej konina nie ustępuje innym gatunkom mięsa czerwonego, a często je przewyższa. Z kolei niska zawartość tłuszczu śródmięśniowego decyduje o niskiej jej kaloryczności porównywalnej z chudą wołowiną lub cielęciną. W ocenie organoleptycznej tłuszcz koni młodych jest biały, starszych szczególnie po sezonie pastwiskowym żółty, o konsystencji bardziej miękkiej niż smalec wieprzowy, w czym bardziej przypomina tłuszcz drobiowy. Śródmięśniowy tłuszcz koński jest oleisty i łatwo topliwy, w związku z czym jest łatwo przyswajalny przez organizm ludzki, występuje w niewielkich ilościach i nie daje się oddzielić mechanicznie od tkanki mięśniowej, co czyni go współdecydującym o jakości mięsa końskiego.

**Cel badań:** Określenie wartości odżywczej tłuszczu śródmięśniowego mięsa koni w zależności od wieku zwierząt i rodzaju badanego mięśnia.

**Materiał i metody:** Badanie przeprowadzono na 60 mięśniach pochodzących z 20 tusz koni rzeźnych. Do badań przeznaczono konie rzeźne płci żeńskiej drugiej klasy jakościowej i podzielono je na dwie grupy badawcze: konie młode w wieku od 6 mies. do 1,5 roku i konie stare w wieku od 10 do 13 lat. Wiek i pochodzenie koni określono na podstawie identyfikacji zawartej w paszportach zwierząt. Z każdej tuszy pobrano trzy mięśnie: mięsień najdłuższy grzbietu (*m. longissimus dorsi*), m. nadgrzebieniowy (*m. supraspinatus*) i półbłoniasty (*m. semimembranosus*). Do badań chemicznych przeznaczono wypreparowaną tkankę mięśniową wraz z tłuszczem śródmięśniowym. Tłuszcz śródmięśniowy poddano ekstrakowaniu i oznaczono jego zawartość metodą Soxhleta. Analizę kwasów tłuszczowych przeprowadzono wg Polskich Norm (PN-EN ISO 5508:1996, PN-EN ISO 5509:2001), metodą chromatografii gazowej z wykorzystaniem chromatografu Varian 450-GC. Wpływ poszczególnych czynników zmienności na oznaczane cechy określono opierając się na analizie wariancji, stosując test wielokrotnych przedziałów ufności T-Tukey'a. Istotność różnic pomiędzy badanymi cechami określono na poziomie  $p \leq 0,05$ .

**Wyniki i omówienie:** Oznaczenia zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) wykazały istotne różnice pomiędzy tłuszczem koni młodych i starych. Natomiast nie stwierdzono istotnych różnic w sumach SFA pomiędzy badanymi rodzajami mięśni w obrębie grup wiekowych. Podstawowymi nasyconymi kwasami tłuszczowymi we wszystkich badanych mięśniach były kw. stearynowy (C 18:0), który stanowi u młodych ok. 45%, zaś u starych ok. 49% ogólnej ilości tej grupy kwasów tłuszczowych. Natomiast kw. palmitynowy (C 16:0), stanowił ok. 44% ich zawartości. Ilość tych kwasów różniła się istotnie pomiędzy grupami wiekowymi, a także u koni starszych pomiędzy badanymi mięśniami. Oznaczenia sumy jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (MUFA) nie wykazały istotnych różnic w poziomie tych kwasów pomiędzy tłuszczem koni młodych i mięśniem najdłuższym grzbietu koni starych. Natomiast różnice te zauważono pomiędzy mięśniem nadgrzebieniowym i półbłoniastym koni starych a pozostałymi badanymi.



**Podsumowanie:** Przeprowadzone badania wykazały niekorzystny z punktu widzenia żywieniowego bilans kwasów tłuszczowych nienasyconych (UFA) do nasyconych (SFA) w tłuszczu zarówno koni młodych, jak też starych. Istotne różnice pomiędzy grupami wiekowymi zaznaczyły się w zawartości kwasów tłuszczowych nasyconych, jak też wielonienasyconych. Różnic takich nie stwierdzono w zawartości kwasów tłuszczowych jednonienasyconych. Z kolei w analizie kwasów tłuszczowych pomiędzy badanymi mięśniami w obrębie grup wiekowych wystąpiły różnice pomiędzy niektórymi badanymi kwasami, ale nie przełożyły się one na ogólne sumy. Tłuszcz śródmięśniowy koni, ze względu na swe cech organoleptyczne, jest cennym składnikiem koniny, jednak jego profil kwasów tłuszczowych nie przemawia za wysoką wartością dietetyczną.





## BADANIA FARMAKOKINETYCZNE OKREŚLAJĄCE STOPIEŃ RYZYKA DLA KONSUMENTÓW PO STOSOWANIU ANTYBIOTYKÓW $\beta$ -LAKTAMOWYCH U KRÓW MLECZNYCH Z PRZYPADKAMI MASTITIS

### PHARMACOKINETIC STUDIES DETERMINING LEVEL OF THE RISK TO CONSUMERS AFTER USE OF $\beta$ -LACTAM ANTIBIOTICS IN DAIRY COWS WITH MASTITIS CASES

Artur Burmańczuk, Zbigniew Roliński

Zakład Farmakologii, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, ul. Akademicka 13, 20-033 Lublin, burman78@o2.pl

Mastitis, czyli zapalenie wymienia u krów, to ważny problem sanitarno-epidemiologiczny. Zagrożenie dla zdrowia człowieka stanowią pozostałości antybiotyków stwierdzone w mleku spożywanym po miejscowym leczeniu stanów zapalnych gruczołu mlekowego u bydła. Innymi przyczynami zwalczania mastitów są straty gospodarcze, spowodowane znacznym spadkiem wydajności mlecznej od 7,8 do 28%, obniżeniem zawartości tłuszczu w mleku od 7,5 do 29%, laktozy do 0,8%, kazeiny do 1,27%, przy równoczesnym wzroście chlorków, białka niekazeinowego, toksyn i produktów rozpadu bakteryjnego oraz elementów komórkowych. Ulega również skróceniu okres użytkowania mlecznego krów do 4–6 lat i znaczne ograniczenie wartości konsumpcyjnej mleka. Trzeba również zwrócić uwagę na wysokie koszty leczenia. Z tego względu przedmiotem szczególnej uwagi jest poszukiwanie skutecznych metod profilaktycznych i leczniczych.

Antybiotyki beta-laktamowe są szeroko stosowaną grupą antybiotyków bakteriobójczych. Do tej grupy zaliczamy: penicyliny, cefalosporyny, karbapenemy, monobaktamy. Antybiotyki te mają wiązanie beta-laktamowe, które ulega rozerwaniu pod wpływem określonych enzymów, tzw. beta-laktamaz produkowanych przez niektóre bakterie – jednak spektrum substratowe poszczególnych enzymów jest różne. Wszystkie antybiotyki beta-laktamowe hamują biosyntezę ściany komórki bakteryjnej, co prowadzi do jej rozpadu. Mechanizm ich działania polega na blokowaniu aktywności enzymów bakteryjnych – transpeptydaz (PBP – Penicillin-binding protein) biorących udział w ostatnim etapie syntezy peptydoglikanu ściany komórki bakteryjnej. Do zablokowania PBP może dojść dzięki strukturalnemu podobieństwu  $\beta$ -laktamów do naturalnego substratu dla enzymu, czyli układu dwóch reszt alaniny będącego częścią podstawowej jednostki budującej mureinę – składnik ściany komórkowej bakterii. Penicyliny i inne  $\beta$ -laktamy łączą się z transpeptydazą w jej centrum aktywnym i w ten sposób blokują jej aktywność. Komórka bakteryjna pozbawiona prawidłowo działającego enzymu nie jest w stanie syntetyzować ściany bakteryjnej. Prowadzi to do upośledzenia jej zdolności do wzrostu w niekorzystnych warunkach środowiska, wynikających ze zwiększenia się – wzrasta przepuszczalność ściany komórkowej. Takie uszkodzenie prowadzi po pewnym czasie do zwiększenia aktywności bakteryjnych enzymów autolitycznych, powodujących samozniszczenie bakterii.

Dotychczasowe badania nad farmakokinetyką antybiotyków  $\beta$ -laktamowych dopuszczonych do obrotu u bydła mlecznego wykonywane były metodami biologicznymi. Metody te wykonywane przy użyciu szczepów wzorcowych charakteryzują się zbyt małą czułością do określenia końcowych stężeń tych antybiotyków w mleku. Ponadto w mleku mogą występować inne substancje hamujące wzrost użytego drobnoustroju wzorcowego. Metodą do oznaczania pozostałości antybiotyków w mleku krów o odpowiedniej czułości, zalecaną przez CVMP i Komitet Ekspertów WHO/FAO, jest chromatografia cieczowa.

**Cel pracy:** Badania farmakokinetyczne pozwalające określić stopień ryzyka dla konsumentów po stosowaniu antybiotyków  $\beta$ -laktamowych u krów mlecznych z przypadkami mastitis, przy zastosowaniu metod chromatografii cieczowej (HPLC) z modyfikacjami własnymi procedury chromatograficznej oznaczania antybiotyków  $\beta$ -laktamowych w mleku.



## OBECNOŚĆ DROBNOUSTROJÓW CHOROBOTWORCZYCH NA POWIERZCHNI JAJ KONSUMPCYJNYCH W ZALEŻNOŚCI OD SYSTEMU UTRZYMANIA KUR NIOSEK

### PRESENCE OF PATHOGENIC MICROORGANISM ON EGG SHELL SURFACE DEPENDING ON HEN MAINTENANCE SYSTEM

Michał Gondek, Zbigniew Bełkot

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: [michal.g@op.pl](mailto:michal.g@op.pl)

Na jakość mikrobiologiczną jaj i występowanie drobnoustrojów chorobotwórczych na ich powierzchni wpływa wiele czynników. Do najważniejszych z nich możemy zaliczyć: system hodowli kur niosek, oddziaływanie mikroflory pochodzącej od człowieka, zanieczyszczenie mikrobiologiczne paszy, pomieszczeń produkcyjnych, a także nieodpowiednie postępowanie z jajami w czasie obrotu. Obecnie wg obowiązujących przepisów wyróżnić można cztery różne systemy chowu kur niosek: klatkowy, ściółkowy, wolno wybiegowy oraz ekologiczny.

**Cel badań:** Określenie obecności drobnoustrojów chorobotwórczych z rodzaju: *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter* oraz gronkowców koagulazododatnich na powierzchni jaj konsumpcyjnych i wskazanie częstotliwości ich występowania w zależności od systemu utrzymania kur niosek.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono ogółem na 90 jajach, po 30 z każdej, z trzech hodowli stosujących różne metody chowu: klatkowy, ściółkowy i wolno wybiegowy. Jaja do badania pobierano bezpośrednio z kurnika z pominięciem etapu znakowania i pakowania do sprzedaży. Na badanym materiale oznaczono na całą powierzchnię skorupy obecność: drobnoustrojów chorobotwórczych z rodzaju: *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter*, oraz *Staphylococcus*. Wszystkie oznaczenia mikrobiologiczne przeprowadzono wg Polskich Norm: PN-EN ISO 6579:2003, PN-EN ISO 10272-1:2007, PN-EN ISO 11290-1:1999/A1:2005, PN-EN ISO 6888-3:2004+AC:2005. Wyizolowane zgodnie z powyższymi normami wybrane bakterie z rodzaju *Staphylococcus* poddano oznaczeniom biochemicznym analizatorem mikrobiologicznym MULTISKAN EX firmy Labsystems, z wykorzystaniem zestawu identyfikacyjnego STAPHY test 24 przy użyciu programu do identyfikacji mikroorganizmów TNW.

**Wyniki i omówienie:** W przeprowadzonych badaniach na powierzchni jaj pochodzących z systemu klatkowego nie stwierdzono obecności oznaczanych drobnoustrojów chorobotwórczych.

Analizując zanieczyszczenie jaj pochodzących od kur z systemu ściółkowego, wyizolowano na trzech jajach bakterie z rodzaju *Listeria*, co stanowiło 10% wszystkich przebadanych jaj pochodzących z tego systemu. W grupie tej *Listeria monocytogenes* została potwierdzona w jednej próbce, w dwóch pozostałych przypadkach wykrywanym drobnoustrojem była *Listeria innocua*. Drugim chorobotwórczym drobnoustrojem wyizolowanym z jaj pochodzących z systemu ściółkowego były bakterie z rodzaju *Campylobacter* spp. stanowiące 13,33% przebadanych w tym kierunku prób. Nie wyizolowano drobnoustrojów z rodzaju *Salmonella*, jak również koagulazododatnich gronkowców.

Spośród 30 przebadanych jaj pochodzących z chowu wolno wybiegowego bakterie z rodzaju *Listeria* spp. wykazano na powierzchni 15 jaj, co stanowi 50% wszystkich zbadanych. W grupie tej *Listeria monocytogenes* została stwierdzona w 20% przypadków, zaś w pozostałych 80% *Listeria innocua*. W badanym systemie z powierzchni trzech jaj wyizolowano *Campylobacter* spp., co stanowiło 10% wszystkich przebadanych. Podobnie jak w poprzednich omawianych systemach nie stwierdzono natomiast bakterii z rodzaju *Salmonella*. Gronkowce koagulazododatnie zostały stwierdzone tylko w jednej próbce. Badanie biochemiczne z użyciem STAPHY – test 24 wykazało obecność wielu różnych gronkowców, z których najczęściej izolowanymi były koagulazoujemne gatunki: *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus gallinarum* oraz koagulazododatni *Staphylococcus hyicus* subsp. *hyicus*.

**Podsumowanie:** Przeprowadzone badania wykazały brak zanieczyszczenia powierzchni jaj pochodzących z systemu klatkowego badanymi drobnoustrojami chorobotwórczymi. Jaja pochodzące z pozostałych dwóch systemów ściółkowego i wolno wybiegowego wykazują podobny stopień zanieczyszczenia bakteriami chorobotwórczymi. Jednak drobnoustroje z rodzaju *Listeria* izolowane były częściej z jaj pochodzących od niosek utrzymywanych na wybiegu, co wiąże się z pewnością z bezpośrednim źródłem zakażenia, jakie stanowią gleba i środowisko zewnętrzne kurnika.

Podkreślić należy, że w żadnym z systemów utrzymania nie wykazano pałeczek *Salmonella*.



## ZASTOSOWANIE TECHNIKI PCR DO WYKRYWANIA I IDENTYFIKACJI *C. BOTULINUM* W MATRYCY PASZOWEJ I ŻYWNOŚCIOWEJ

### APPLICATION OF PCR TECHNIQUES FOR DETECTION AND IDENTIFICATION OF *C. BOTULINUM* IN FEED AND FOOD MATRIXES

Krzysztof Kwiatek, Tomasz Grenda, Elżbieta Kukier, Magdalena Goldsztejn

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Pasz,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, email: tomasz.grenda@piwet.pulawy.pl

Bakterie z gatunku *Clostridium botulinum* stanowią beztlenowe laseczki przetrwalnikujące, które zdolne są do wytwarzania najbardziej niebezpiecznych substancji biologicznych naturalnie występujących w przyrodzie, zwanych toksynami botulinowymi. Toksyny te są czynnikiem etiologicznym schorzenia zwanego botulizmem. Do objawów botulizmu dochodzi najczęściej wskutek spożycia przez zwierzę lub człowieka pokarmu zanieczyszczonego toksyną bądź przetrwalnikami wytwarzanymi przez *C. botulinum*.

**Cel badań:** Opracowanie procedury wykrywania i określania typów toksycznych *C. botulinum* w paszach i żywności, przy zastosowaniu technik PCR i real – time PCR oraz tradycyjnych metod hodowlanych.

**Materiał i metody:** W toku wykonywanych analiz wykorzystano metodę real – time PCR [Raphael i wsp., 2007], która umożliwiała amplifikację fragmentu genu *ntnh*, który warunkuje wytwarzanie niehemaglutyninowego komponentu protoksyny botulinowej. Gen ten jest wspólny dla wszystkich typów toksycznych *C. botulinum* (od A do G). Do określania typów toksycznych i potwierdzenia specyficzności rezultatów uzyskiwanych w toku analiz przeprowadzanych metodą skринingową real – time PCR zastosowano klasyczne testy PCR z detekcją na żelu agarozowym. Toksotypy A, B, E, F *C. botulinum* wykrywano przy zastosowaniu multiplex PCR [Anon, 2008], który umożliwiał amplifikację genów *bont* warunkujących wytwarzanie właściwych komponentów toksyn botulinowych (BoNT). Do wykrywania toksotypów C i D zastosowano metodę PCR [Takeshi i wsp., 1995] umożliwiającą amplifikację fragmentów genów warunkujących wytwarzanie łańcucha lekkiego (Lc) we właściwych komponentach toksyn botulinowych (BoNT). Metodę real – time PCR i mPCR poddano walidacji z zastosowaniem matrycy paszowej i żywnościowej. Matryce te kontaminowano szczepami wzorcowymi *C. botulinum* toksotypów A, B, E, F z kolekcji NCTC (NCTC 887, NCTC 3815, NCTC 8266, NCTC 10281). Dla metody mPCR dokonano walidacji po etapie 48-godzinnej hodowli próbek wspomnianych matryc kontaminowanych przetrwalnikami *C. botulinum* (NCTC 887, NCTC 3815, NCTC 8266, NCTC 10281), w bulionie TPGY. Ze względu na brak szczepów wzorcowych *C. botulinum* C i D produkty charakterystyczne dla tych toksotypów poddano sekwencjonowaniu, którego dokonano w Zakładzie Mikrobiologii PIWet – PIB. Badaniom poddano 160 próbek pasz, a także innego materiału analitycznego powiązanego z wystąpieniem objawów botulizmu u zwierząt. Badaniom poddano również 160 próbek żywności. Izolowania szczepów *C. botulinum* dokonywano przy zastosowaniu podłoży różnicujących wg Willis – Hobbs i FAA.

**Wyniki i omówienie:** W toku badań walidacyjnych metody real – time PCR zaobserwowano, że na uzyskiwane wyniki znaczny wpływ ma efekt inhibicji stosowanych matryc. Bezpośrednie wykrywanie komórek *C. botulinum* przy zastosowaniu skринingowej metody real – time PCR było możliwe w zakresie  $10^3$ – $10^4$  jtk/ml zawiesiny próbek matrycy żywnościowej oraz na poziomie  $10^4$  jtk/ml zawiesiny próbek matrycy paszowej. Uzyskane wyniki wskazywały na trudności w wykrywaniu przetrwalników *C. botulinum* przy zastosowaniu mPCR po etapie przednamnażania, a w szczególności z próbek matrycy paszowej. Granice wykrywalności, wyrażone jako  $LOD_{50}$ , kształtowały się w zakresie od 0,034 (0,021–0,056) spory/g do 0,102 (0,062–0,168) spory/g dla próbek matrycy żywnościowej. Dla próbek matrycy paszowej  $LOD_{50}$  kształtowały się na poziomie o ok. 10 razy wyższym, a mianowicie od 0,191 (0,139–0,262) spory/g do 0,891 (0,542–1,464) spory/g. W toku badań próbek pasz oraz innego materiału analitycznego powiązanego z wystąpieniem przypadków botulizmu uzyskano 3 wyniki pozytywne, wskazujące na obecność toksotypów C, D i F *C. botulinum*. Przeprowadzone badania próbek żywności umożliwiły uzyskanie 5 wyników pozytywnych po etapie hodowli płynnej próbek miodu, wskazujących na obecność w czterech próbkach *C. botulinum* toksotypu A, a w jednej – toksotypu B. Z próbek tych izolowano 2 szczepy *C. botulinum* toksotypu A. Z hodowli płynnej próbki, dla której uzyskano wynik wskazujący na obecność toksotypu B, izolowano szczep fenotypowopodobny, który nie wykazywał obecności genów warunkujących wytwarzanie toksyny botulinowej. Uzyskane rezultaty wskazują na możliwość utraty właściwości toksycznych w procesie izolowania *C. botulinum* [Grenda, 2011].



## WPŁYW WIEKU I RODZAJU MIĘŚNI NA CECHY ORGANOLEPTYCZNE MIĘSA KONI

### INFLUENCE OF AGE AND KIND OF MUSCLES ON SENSORY CHARACTERISTICS OF HORSE MEAT

Monika Maćkowiak-Dryka, Zbigniew Bełkot

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: mackowiak.monika@up.lublin.pl

W Polsce nie ma tradycji spożywania koniny, ponieważ Polacy znani są ze swego emocjonalnego stosunku do koni, a także braku umiejętności w przygotowywaniu potraw z tego rodzaju mięsa. Biorąc pod uwagę wartość spożywczą koniny, można stwierdzić, że przewyższa ona wieprzowinę i wołowinę. Wskazują na to zarówno wysoka zawartość pełnowartościowego pod względem aminokwasów egzogennych białka ok. 21%, wysoka zawartość witamin z grupy B oraz soli mineralnych – szczególnie wapnia, fosforu i żelaza. Konina ze względu na niską zawartość tłuszczu śródmięśniowego jest też mniej kaloryczna niż inne mięsa czerwone. Specyfika mięsa końskiego polega na delikatnej strukturze i drobnych włóknach mięśniowych, co odróżnia je od wołowiny. Najbardziej charakterystycznymi cechami mięsa koni jest jego barwa oraz słodkawy zapach i smak. Na kolor wpływa wzajemny stosunek barwników mięśniowych. Mioglobina w mięsie koni szybko przekształca się na powietrzu w oksymyoglobinę a następnie metmyoglobinę, co powoduje jej ściemnienie. Z kolei charakterystyczny smak nadaje podwyższona zawartość aminokwasów glicyny i alaniny, a także wyższa ok. 2% zawartość glikogenu. Za najlepsze do celów konsumpcyjnych uważane jest świeże mięso wychłodzone po dłuższym okresie przechowywania. Cechuje je wtedy charakterystyczna brunatno-czerwona barwa, odpowiednia spoistość, kruchość i soczystość. Na cechy te wpływa wiele czynników, do których zaliczyć możemy wiek ubijanych zwierząt, typ rasowy, żywienie, a także rodzaj mięśnia wykrawanego z poszczególnych elementów tuszy.

**Cel badań:** Określenie cech organoleptycznych mięsa koni w zależności od wieku zwierząt i rodzaju badanego mięśnia.

**Materiały i metody:** Badanie przeprowadzono na 60 mięśniach pochodzących z 20 tusz koni rzeźnych. Do badań przeznaczono konie rzeźne płci żeńskiej drugiej klasy jakościowej i podzielono je na dwie grupy badawcze: konie młode w wieku od 6 mies. do 1,5 roku i konie stare w wieku od 10 do 13 lat. Wiek i pochodzenie koni określono na podstawie identyfikacji zawartej w paszportach zwierząt. Z każdej badanej tuszy pobrano trzy mięśnie szkieletowe: mięsień najdłuższy grzbietu (*m. longissimus dorsi*), nadgrzebieniowy (*m. supraspinatus*) i mięsień półbłoniasty (*m. semimembranosus*). Do badania organoleptycznego przeznaczono mięśnie po uprzednim poddaniu je temp. 80°C mierzonej wewnątrz mięśnia. Mięśnie oceniano na świeżo dokonanym przekroju, określając barwę, zapach (natężenie i pożądalność), smak, kruchość i soczystość. Ocenę przeprowadziła stała 10-osobowa komisja, stosując rozszerzoną skalę 5-punktową z możliwością stosowania ocen pośrednich (4,5; 3,5; 2,5; 1,5). Każdej ocenie została przyporządkowana słowna definicja. Przygotowanie skali punktowej i wykonanie analizy sensorycznej oparto na Polskich Normach: PN-ISO 6658:1998, PN-ISO 3972:1998, PN-ISO 5496:1997, PN-ISO 4121:1998, PN-EN ISO 5492:2009 i wskazaniach piśmiennictwa. Wpływ poszczególnych czynników zmienności na oznaczane wyróżniki określono opierając się na analizie wariancji stosując test wielokrotnych przedziałów ufności T-Tukey'a. Istotność różnic pomiędzy badanymi cechami określono na poziomie  $p \leq 0,05$ .

**Podsumowanie:** Przeprowadzone badania wykazały, że wiek koni rzeźnych w istotny sposób wpływa na jakość sensoryczną uzyskiwanego mięsa. Mięso koni młodych charakteryzuje się jasnobrązową barwą, o zapachu obojętnym lub charakterystycznym dla mięsa końskiego, jest bardzo kruche, soczyste o smaku charakterystycznym dla koniny. Z kolei mięso koni starych jest barwy ciemnobrązowej, o zapachu obojętnym albo lekko zmienionym, twarde, mało soczyste lub suche o smaku charakterystycznym dla koniny albo zmienionym. Istotne różnice zauważono również w kruchości, soczystości i smaku pomiędzy poszczególnymi rodzajami mięśni w obrębie grup wiekowych. Najwyższe oceny uzyskał mięsień najdłuższy grzbietu zarówno koni młodych, jak i starych, zdecydowanie najslabsze mięśnie nadgrzebieniowy i półbłoniasty koni starych. Z przeprowadzonych badań wynika, że zarówno wiek zwierzęcia, jak też rodzaj mięśnia mają istotny wpływ na wartość organoleptyczną koniny, która wraz z wiekiem traci swoje korzystne cechy sensoryczne.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Korzeniowski W., Jankowska B., Kwiatkowska, 1994, Jakość końskiej tkanki mięśniowej i tłuszczowej. Med. Wet. 50, 486–488.





## ROZMIESZCZENIE ORAZ INTENSYWNOŚĆ INWAZJI *TRICHINELLA SPIRALIS* W JĘZYKACH DOŚWIADCZALNIE ZARAŻONYCH KRÓLIKÓW

### DISTRIBUTION AND INTENSITY OF *TRICHINELLA SPIRALIS* INVASION IN TONGUES OF EXPERIMENTALLY INFECTED RABBITS

Zygmunt Nowakowski, Greta Skrzypek

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Badania nad rozmieszczeniem oraz intensywnością inwazji larw włośni w organizmie żywicieli są ważne z punktu widzenia diagnostyki i inwazjologii włośnicy. Rozmieszczenie oraz intensywność inwazji w mięśniach zależą istotnie od gatunku włośni, gatunku zwierząt, rodzaju poszczególnych mięśni, liczby larw włośni powodującej zarażenie zwierzęcia, im większa jest liczba larw *Trichinella*, tym większa jest intensywność inwazji włośni w mięśniach. Wykrywalność włośni w tkance mięśniowej zwierząt zależy od rozmieszczenia i intensywności inwazji włośni, a także od wielkości masy próbki badanych mięśni oraz metody badania na obecność włośni (metoda: wytrawiania, kompresorowa). W piśmiennictwie brak jest danych dotyczących rozmieszczenia oraz intensywności inwazji larw włośni w mięśniach i językach, królików doświadczalnie zarażonych małą liczbą larw *Trichinella spiralis*, dlatego też podjęto i przeprowadzono badania w tym zakresie tematycznym.

**Cel badań:** Rozmieszczenie topograficzne oraz intensywność inwazji larw *T. spiralis* w językach (w próbkach o masie 0,5 grama) królików zarażonych małą liczbą larw *T. spiralis*. Realizacja wymienionego celu badań pozwoli na dokładne określenie przydatności języka do diagnostyki włośnicy u królików, to jest przyczyni się do wysokiej wykrywalności włośni.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 10 zdrowych królikach rzeźnych (samcach) o masie ciała 5 kg. Króliki były żywione tylko paszą roślinną. Zgodę na przeprowadzenie badań na królikach wydała II Lokalna Komisja Etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach przy Uniwersytecie Przyrodniczym w Lublinie. Króliki zarażono jednorazowo podając *per os* małą liczbę inwazyjnych larw mięśniowych *Trichinella spiralis* na jednego królika. Identyfikacje gatunkową *T. spiralis* potwierdzono badaniami DNA. Króliki poddano ubojowi 60. dnia po zarażeniu. Do badań pobrano 10 języków o łącznej masie 70 gramów, a następnie z nich wytrawiono oddzielnie 140 próbek mięśniowych o masie po 0,5 grama każda próbka. Rozmieszczenie oraz intensywność inwazji larw *T. spiralis* (liczba włośni w 0,5 g mięśnia) w badanych językach oznaczono metodą wytrawiania według obowiązującego Rozporządzenia Komisji (WE) nr 2075 z dnia 5 grudnia 2005 r. ustanawiającego szczegółowe przepisy dotyczące urzędowych kontroli w odniesieniu do włośni (*Trichinella*) w mięsie.

**Wyniki i omówienie:** Stwierdzono, że króliki są podatne na zarażenie małą liczbą larw *T. spiralis*. Średnia intensywność *T. spiralis* w języku wynosiła 1,50 larw/ 0,5 g (to jest 3 larw/g). Metodą kompresorową stwierdzono otorbione larwy włośni *T. spiralis* we wszystkich badanych mięśniach królików. Stwierdzono włośnię w 108 próbkach języków (77,14%), natomiast nie stwierdzono włośni w 32 próbkach języków (22,86%). Intensywność inwazji larw *T. spiralis* w poszczególnych 0,5 g próbkach języków była zróżnicowana i wynosiła od 1 do 6 larw w 0,5 g, natomiast w pozostałych próbkach języków (tj. 22,86 %) nie stwierdzono włośni. Najwięcej próbek było z inwazją 1 i 2 włośni (37,14 i 21,43%); następnie z inwazją 3 i 4 włośni (8,57 i 6,43%) w 0,5 g języka. Najmniej próbek było z inwazją 5 i 6 włośni (2,14 i 1,43 %) w 0,5 g języka. Stwierdzono nierównomierne rozmieszczenie ilościowe larw *Trichinella spiralis*, a także ich brak w badanych 0,5 g próbkach języków doświadczalnie zarażanych królików małą liczbą larw włośni. Brak danych piśmiennictwa uniemożliwił porównanie wyników.





## ZMIENNOŚĆ ZANIECZYSZCZENIA BAKTERYJNEGO TUSZ JAGNIĘCYCH W CZASIE UBOJU

## VARIABILITY OF BACTERIAL CONTAMINATION OF LAMBS CARCASSES DURING SLAUGHTER

Waldemar Paszkiewicz, Renata Pyz-Łukasik

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, ul. Akademicka 12, e-mail: waldemar.paszkiewicz@up.lublin.pl

Do zanieczyszczenia surowców rzeźnych dochodzi głównie podczas czynności ubojowych. W zależności od warunków higienicznych na 1 cm<sup>2</sup> powierzchni tuszy może znajdować się od 10<sup>3</sup> do 10<sup>4</sup>, a nawet do 10<sup>6</sup> drobnoustrojów [1].

**Cel badań:** Określenie zanieczyszczenia bakteryjnego powierzchni tusz jagniąt w zależności od kolejności ubijanych zwierząt w trakcie dnia ubojowego.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na tuszach pochodzących z rzeźni posiadającej uprawnienia do produkcji na rynek. W badanym zakładzie ubój zwierząt przeprowadzono w jednym cyklu, w jednym (najczęściej poniedziałek) dniu tygodnia. Średni dzienny ubój w tym zakładzie wynosił 164 sztuki jagniąt. Na potrzeby oznaczeń ogólnej liczby drobnoustrojów tlenowych, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* i paciorkowców kałowych przebadano 32 tusze (po 8 w każdym cyklu ubojowym), natomiast w celu wykrycia obecności pałeczek rodzaju *Salmonella* przebadano 50 tusz (po 12 w 3 cyklach i 14 w cyklu czwartym). Oznaczenia poszczególnych grup drobnoustrojów przeprowadzono według: PN-EN ISO 4833:2004, PN-ISO 21528-2:2005, PN-A-82055-7:1997 i PN-EN ISO 6579:2003. Próbkę do badań pobierano metodą niszczącą oraz wymazową z karkówki, mostka, combra i udźca według zaleceń PN-ISO 17604:2005. Każdy dzienny cykl ubojowy podzielono na 4 fazy. W fazie I liczba ubitych zwierząt nie przekroczyła 25% ogólnej liczby zwierząt zaplanowanych do uboju w danym dniu, w fazie II – mieściła się w przedziale 51–60%, w III – wynosiła 61–74%, a w fazie IV zawsze osiągała poziom powyżej 75%. W każdej z faz pobierano próbki z 2 tusz (n = 8). Do wyliczenia średniej dziennej logarytmicznej w badanych cyklach (dniach) ubojowych uwzględniono wyniki uzyskane dla próbek pobieranych w II, III i IV fazie uboju (n = 6).

**Wyniki i omówienie:** Stwierdzono, że kolejność uboju jagniąt w trakcie dnia ubojowego nie wpływała istotnie na poziom ogólnej liczby bakterii na powierzchni badanych tusz. Wyniki badań wykazały, że ogólne zanieczyszczenie bakteriami tlenowymi tusz jagnięcych wahało się od 8,0 x 10<sup>2</sup> jtk/cm<sup>2</sup> do 2,9 x 10<sup>3</sup> jtk/cm<sup>2</sup>. Nie stwierdzono również istotnych różnic między poszczególnymi cyklami ubojowymi w zakresie ogólnej liczby drobnoustrojów. Zanieczyszczenie mieściło się w przedziale od 7,5 x 10<sup>2</sup> (2,78 log) do 2,0 x 10<sup>3</sup> (3,3 log) jtk/cm<sup>2</sup>. Uzyskane średnie dzienne logarytmiczne zanieczyszczenia nie przekroczyły wartości granicznej liczby drobnoustrojów (m) określonej dla standardu higieny procesu ubojowego owiec w rozporządzeniu Komisji 2073/2005 [2]. Drobnoustroje z rodziny *Enterobacteriaceae* stwierdzono w 50% badanych próbek, a paciorkowce kałowe w wszystkich badanych próbkach. Średnia dzienna logarytmiczna zanieczyszczenia tymi drobnoustrojami wynosiła odpowiednio od 0,15 do 0,95 log jtk/cm<sup>2</sup> (15 jtk/10 cm<sup>2</sup>–9 jtk/cm<sup>2</sup>) oraz 0,76–1,76 log jtk/cm<sup>2</sup> (6–5,8 x 10<sup>1</sup> jtk/cm<sup>2</sup>). Również w przypadku zanieczyszczenia drobnoustrojami z rodziny *Enterobacteriaceae* średnie dzienne logarytmiczne zanieczyszczenia nie przekroczyły wartości granicznej liczby drobnoustrojów (m) określonej dla standardu higieny procesu ubojowego owiec w rozporządzeniu Komisji 2073/2005. W żadnej z badanych próbek nie stwierdzono obecności pałeczek rodzaju *Salmonella*. Przeprowadzone badania wykazały brak wpływu liczby ubitych zwierząt w trakcie dnia ubojowego na poziom zanieczyszczenia bakteryjnego powierzchni tusz. Jest to wynikiem przestrzegania procedur i zasad systemu HACCP oraz prawidłowo wykonywanego nadzoru sanitarno-weterynaryjnego w badanym zakładzie.

### Piśmiennictwo:

- [1] Bem Z., Hechelmann H., 1995. Chilling and refrigerated storage of meat. *Fleischwirtschaft*, 75, 439–444.
- [2] Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych – Dz.Urz. L 338 z 22.12.2005, s. 1.



## WYSTĘPOWANIE DROBNOUSTROJÓW CHOROBTWÓRCZYCH W MIĘSIE ŚLIMAKÓW

### OCCURRENCE OF PATHOGENIC MICROORGANISM IN MEAT OF SNAILS

Waldemar Paszkiewicz, Krzysztof Szkucik

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, ul. Akademicka 12, Lublin, e-mail: waldemar.paszkiewicz@up.lublin.pl

Bezpieczeństwo jest głównym czynnikiem decydującymi o przydatności spożywczej każdego rodzaju żywności. W Polsce nie były dotychczas podejmowane kompleksowe badania mikrobiologiczne mięsa ślimaków. Stąd też celowym wydaje się dokładne rozpoznanie zagrożeń mikrobiologicznych tego mięsa.

**Cel badań:** Określenie zanieczyszczenia mięsa ślimaków bakteriami rodzaju *Salmonella* oraz drobnoustrojami *Listeria monocytogenes*.

**Materiał i metody:** Materiałem do badań były próbki mięsa (każda o masie 25 g) 3 gatunków ślimaków: dużego szarego (*Cornu aspersa maxima*), małego szarego (*Cornu aspersa aspersa*) i winniczka (*Helix pomatia*). Ślimaki z rodzaju *Cornu* pochodziły z chowu przemysłowego, natomiast winniczki – ze zbiorów na terenie województwa dolnośląskiego i wielkopolskiego. Zwierzęta uśmiercano chloroformem, a następnie z zachowaniem warunków jałowości pobierano z nich materiał do badań (tzw. głowonogę). Na potrzeby oznaczeń przebadano: a) w kierunku obecności drobnoustrojów rodzaju *Salmonella* – 120 próbek mięsa ślimaków hodowlanych (po 60 z każdego gatunku) oraz 120 próbek mięsa pozyskanego z winniczków (po 60 z każdego województwa), b) w kierunku *L. monocytogenes* – 40 próbek mięsa pozyskanego z winniczków (po 20 z każdego województwa). Badania przeprowadzono wg PN-EN ISO 6579:2003 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania *Salmonella* spp. i PN-EN ISO 11290-1:1999 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes* – Metoda wykrywania obecności.

**Wyniki i omówienie:** W żadnej z badanych próbek ( $n = 240$ ) nie stwierdzono obecności pałeczek rodzaju *Salmonella*. Bakterie te uznawane są przez niektórych badaczy za składnik mikroflory naturalnie występującej w środowisku ferm hodowlanych i przez to stanowią potencjalny czynnik ryzyka dla zdrowia ludzi. Stwierdzali oni *Salmonelle* w ponad 30% badanych próbek surowego mięsa ślimaków, a najczęściej izolowanymi serotypami były: *S. Gatuni*, *S. Montevideo*, *S. Newport* i *S. Bredeney* [1]. Uzyskany w badaniach własnych wynik jest zbieżny doniesieniami innych autorów [2], którzy kontrolując status higieny procesu produkcji mrożonego mięsa ślimaków nie wyizolowali *Salmonelli* na żadnym etapie przetwarzania. W badaniach własnych listerie stwierdzono w 13 (65%) próbkach mięsa pozyskanych ze ślimaków z woj. wielkopolskiego oraz w 7 (35%) próbkach mięsa pozyskanych ze ślimaków z woj. dolnośląskiego. Według danych piśmiennictwa [2] *L. monocytogenes* wykrywana jest najczęściej w początkowych fazach produkcji mięsa ślimaków, począwszy od etapu odbioru żywych zwierząt, poprzez mycie, parowanie, aż do etapu usunięcia muszli. Dopiero kolejne etapy postępowania produkcyjnego, czyli pierwsze i drugie gotowanie, powodują zniszczenie listerii zawartych w mięsie. Stąd też stwierdzenie obecności tych drobnoustrojów w surowym mięsie jest jednocześnie wskazaniem pierwotnego źródła zanieczyszczenia środowiska zakładu. Jednak inni autorzy [3] wskazują, że istnieje ryzyko ponownego zanieczyszczenia listeriami gotowego produktu. Wyizolowali oni *L. monocytogenes* z 2 (100%) próbek surowego mięsa winniczków oraz z 16 (57%) próbek mięsa po obróbce termicznej.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Andrews W.H., Wilson C.R., Romero A., Poelma P.L., 1975. The Moroccan Food Snail, *Helix aspersa*, as a Source of *Salmonella*. *Applied Microbiology*, 29, 328–333.
- [2] Temelli S., Dokuzulu C., Cem Sen M.K., 2006. Determination of microbiological contamination sources during frozen snail meat processing stages. *Food Control*, 17(1), 22–29.
- [3] Kirkan S., Göksoy E. Ö., Kaya O., 2006. Detection of *Listeria monocytogenes* by using PCR in *Helix pomatia*. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 30, 375–380.

POZIOM UBICHINONU Q<sub>10</sub> W MIĘSIE KRÓLIKÓWUBIQUINONE Q<sub>10</sub> LEVEL IN RABBIT MEATRenata Pyz-Łukasik<sup>1</sup>, Krzysztof Szkucik<sup>1</sup>, Marta Wójcik<sup>2</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, <sup>2</sup>Katedra Nauk Przedklinicznych, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: krzysztof.szkucik@up.lublin.pl

U ludzi koenzym Q<sub>10</sub> bierze udział w syntezie ATP, termogenezie, stabilizuje błony komórkowe, przeciwdziała dysfunkcji śródbłonna, jak również wykazuje właściwości antyoksydacyjne. Koenzym Q<sub>10</sub> występuje w większości produktów żywnościowych, jednak w zróżnicowanych ilościach. W tkance mięśniowej zawartość koenzymu Q<sub>10</sub> w zależności od gatunku zwierzęcia rzeźnego i elementu zasadniczego, płci oraz rodzaju mięśni waha się od 13,8–45 µg/g, u ryb, skorupiaków i mięczaków od 0,10–130 µg/g, w warzywach od 0,08–7,47 µg/g, w owocach od 0,51–9,48 µg/g.

**Cel badań:** Określenie zawartości ubichinonu (CoQ<sub>10</sub>) w tkance mięśniowej królików i jego zmienności w zależności od elementu zasadniczego oraz systemu chowu.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 90 próbek tkanki mięśniowej królików, o przyzwoitej masie 4,5–5,0 kg. Pierwszą grupę stanowiły zwierzęta zróżnicowane pod względem rasowym, pochodzące z hodowli przydomowych i żywione w sposób tradycyjny. Drugą grupę stanowiły zwierzęta pochodzące z chowu fermowego żywione paszami przemysłowymi. Po 24 godzinach od uboju pobierano do badań mięśnie z dwóch różnych elementów tuszki (uda i combrze). W mięśniach tych oznaczono ubichinon i białko całkowite. Ubichinon Q<sub>10</sub> izolowano z tkanki mięśniowej poprzez dwukrotną ekstrakcję dichlorometanem, a następnie oznaczono metodą wysoko sprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Zawartość białka całkowitego oznaczono metodą Kjeldahla według wskazań Polskiej Normy.

**Wyniki i omówienie:** Zawartość ubichinonu w tkance mięśniowej królików rzeźnych wahała się od 76 do 127 µg na 1 gram tkanki. Przeprowadzone badania wykazały, że czynnikami decydującymi o poziomie Q<sub>10</sub> są rodzaj chowu oraz rodzaj mięśnia. Mięso królików pochodzących z tradycyjnych przydomowych hodowli cechowało się wyższym poziomem ubichinonu w porównaniu z chowem fermowym. Podobnie poziom ubichinonu w combrze był istotnie wyższy niż w mięśniach uda, a zależności te wystąpiły w obu rodzajach hodowli. Określając zawartość białka, wykazano wyższy jego poziom w combrze niż w mięśniach uda. Nie stwierdzono jednak różnic w zawartości białka w zależności od systemu chowu zwierząt. Analizując poziom ubichinonu w przeliczeniu na 1 gram białka, nie odnotowano różnic w jego zawartości w combrze i mięśniach uda.

**Podsumowanie:** Badania wykazały wpływ systemu chowu i rodzaju elementu zasadniczego na poziom ubichinonu Q<sub>10</sub> w tkance mięśniowej królików. Istotnie wyższą zawartość koenzymu Q<sub>10</sub> stwierdzono w tkance mięśniowej królików z przydomowych hodowli określanych jako „chów ekologiczny”. Najwyższy poziom CoQ<sub>10</sub> wykazano w combrze, w którym zawartość białka była również najwyższa.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Janicki B., Buzala M., 2012. Rola koenzymu Q<sub>10</sub> w organizmie ludzi i zwierząt. *Med. Wet.*, 68 (4), 214–217.
- [2] Rousseau G., Varin F., 1998. Determination of ubiquinone-9 and 10 levels in rat tissues and blood by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Chromatographic Science*, 36, 247–252.
- [3] Szkucik K., Pyz-Łukasik R., 2009. Jakość zdrowotna mięsa królików. *Med. Wet.*, 65, 665–669.
- [4] Wójcik M., Bobowiec R., Martelli F., Gazzano A., 2003. The response of bile secretion and ubiquinone Q<sub>10</sub> to hyperglycaemia in sheep. *Polish journal of Veterinary Sciences*, 6, 183–188.



## ANALIZA SKŁADU GATUNKOWEGO MIĘSNYCH PRZETWORÓW Z DZICZYZNY

### ANALYZE OF SPECIES COMPOSITION OF GAME MEAT PRODUCTS

Lech Rak, Jacek Bania

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław e-mail: lech.rak@up.wroc.pl*

Polski rynek mięsa i przetworów mięsnych oferuje znaczną liczbę produktów zawierających mięso zwierząt łownych. Ze względu na fakt, iż produkty te są zazwyczaj droższe od wytworzonych wyłącznie z mięsa zwierząt rzeźnych, narażone są one na celowe zmienianie składu poprzez zastępowanie droższych surowców, tj. dziczyzny tańszymi zamiennikami w postaci mięsa zwierząt rzeźnych. Detekcja zafałszowania produktów, szczególnie tych o wysokim stopniu rozdrobnienia, jak np. pasztetów za pomocą analiz organoleptycznych, jest praktycznie niemożliwa. Badanie składu gatunkowego przetworów mięsnych poddanych obróbce termicznej może być jednak z powodzeniem prowadzone metodami analizy DNA.

**Cel pracy:** Analiza dostępnych na rynku krajowych i zagranicznych przetworów mięsnych wyprodukowanych z dziczyzny pod kątem zgodności składu gatunkowego z deklaracją zamieszczoną na etykiecie.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło mięso i wyroby mięsne deklarowane przez producentów jako dziczyzna lub wytworzone z udziałem dziczyzny. Analizie poddano również mięso strusi. Próbkę produktów, tj. mięso mrożone w elementach, w tym gulaszowe, pasztety oraz wędliny zakupiono w sklepach na terenie Wrocławia w okresie 2009–2011. Producentami badanych wyrobów były firmy krajowe i zagraniczne.

Analiza próbek obejmowała ekstrakcję DNA z mięsa i wyrobów, amplifikację za pomocą PCR, elektroforetyczny rozdział uzyskanych produktów oraz ich sekwencjonowanie. Zastosowano startery pozwalające na stwierdzenie obecności DNA ssaków S-for 5'-GGTCTGTAAACCAGANAAGGAG-3' S-rev 5'-TGGTT-TCAAGCGGCATGGTM-3' oraz ptaków P-for 5'-CAAACCTGGGATTAG ATACCCCACTAT-3' P-rev 5'-GAGGGTGACGGGCGGTGTGT-3'. Produkty PCR uzyskane z produktów zawierających mięso ptaków sekwencjonowano. DNA z produktów zawierających mięso ssaków analizowano przy użyciu starterów gatunkowo specyficznych. Zastosowana metoda nie pozwala na różnicowanie DNA pochodzącego od dzików i świń domowych.

**Wyniki:** Analizom poddano 70 próbek przetworów i mięsa z dziczyzny. W żadnym z produktów nie stwierdzono niezgodności pomiędzy wyznaczonym składem gatunkowym a składem deklarowanym przez producenta.



## IDENTYFIKACJA GATUNKOWA MIĘSA WYBRANYCH ZWIERZĄT ŁOWNYCH ZA POMOCĄ PCR

### SPECIES IDENTIFICATION OF SELECTED GAME MEAT BY PCR

Lech Rak, Jacek Bania

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Konsumenta, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e mail: lech.rak@up.wroc.pl

Rosnące zainteresowanie konsumentów dziczyzną naraża produkty wytworzone z jej udziałem na fałszowanie poprzez zastępowanie mięsa zwierząt łownych mięsem zwierząt rzeźnych. Wykrywanie tych zafałszowań będące elementem ochrony interesów konsumentów wymaga zastosowania nowoczesnych metod umożliwiających jednoznacznie identyfikację gatunkową mięsa.

**Cel pracy:** Opracowanie metody identyfikacji gatunkowej mięsa daniela, jelenia, sarny i zająca przy użyciu metod analizy DNA.

**Materiał i metody:** Mięso zwierząt łownych pozyskano w zakładzie przetwórstwa dziczyzny. Analizy próbek obejmowały ekstrakcję DNA, PCR oraz elektroforetyczny rozdział produktów. Opracowano gatunkowo specyficzne startery dla mięsa czterech gatunków zwierząt łownych, tj.: jeleni *Cervus elaphus* J-for 5'-CCCATTTTACATTTTACATCCACCAACC-3' J-rev 5'-TATAAATAATAGAAAGTACA-3', daniela *Dama dama* D-for 5'-CTCCATAAAAATCAAG AAC-3' D-rev 5'-TATATCCATTAATTACACAG-3', sarna *Capreolus capreolus* S-for 5'-TCCA AAAAACCAAGAACTTTAC-3' S-rev 5'-CATATAATTAACACACAAG-CATG-3' i zając *Lepus europaeus* Z-for 5'-CTGCTTTACTCTTAATAACATATC-3' Z-rev 5'-CATAACTC-TATCACCA ACATGG-3'. Długość amplikonów dla badanych gatunków wynosiła odpowiednio: 158, 111, 116 i 254 pary zasad. Sekwencje starterów obejmowały fragmenty mitochondrialnego regionu D-loop. Badania prowadzono na mięsie surowym oraz poddanym obróbce termicznej. Próbkę mięsa poddawano gotowaniu w 100°C przez 40 minut oraz autoklawowaniu w 121°C przez 20 minut. Specyficzność starterów badano wobec DNA z mięsa zwierząt rzeźnych konia, krowy, świni, owcy, kozy i królika.

**Wyniki:** Opracowane startery pozwoliły na uzyskanie odpowiedniej wielkości produktów PCR wyłącznie z DNA z mięsa zwierząt łownych. Nie stwierdzono obecności produktów PCR, stosując startery do DNA z mięsa zwierząt rzeźnych. Próg wykrywalności metody wyznaczono na DNA z mieszanin zawierających 0,5; 1,0; 2,0; i 5,0% mięsa poszczególnych badanych gatunków zwierząt łownych w mięsie wołowym i wieprzowym. Użycie opracowanych starterów pozwoliło na wykrywanie DNA mięsa poszczególnych gatunków zwierząt łownych od 0,5%. Obróbka termiczna mięsa nie wpływała na wyniki analiz.

**Omówienie:** Opracowana metoda umożliwia identyfikację gatunkową mięsa daniela, jelenia, sarny i zająca oraz ich wykrywanie w przetworach mięsnych poddanych obróbce termicznej. Metoda może być zastosowana do analiz mięsa i przetworów znajdujących się na rynku jak i w postępowaniach dochodzeniowych prowadzonych w celu identyfikacji mięsa kłusowanych zwierząt łownych.





## WPŁYW TEMPERATURY NA PRZEŻYwalNOŚĆ PAŁECZEK *SALMONELLA* W FERMENTOWANYCH NAPOJACH MLECZNYCH

### EFFECT OF TEMPERATURE ON SURVIVAL RATE OF *SALMONELLA SP.* IN FERMENTED MILKS

Małgorzata Szczawińska, Jacek Szczawiński

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa,  
e-mail: malgorzata\_szczawinska@sggw.pl

**Cel badań:** Określenie oraz porównanie przeżywalności *Salmonella* Enteritidis w jogurcie i kefirze przechowywanym w różnej temperaturze.

**Materiał i metody:** Materiałem do badań były jogurt oraz kefir w okresie przydatności do spożycia. Próbkę napojów skażano mieszaniną trzech szczepów *S. Enteritidis*, a następnie przechowywano w temperaturze 5, 10, 15, 20 i 25°C przez 24 godziny w przypadku jogurtu oraz przez 32 godziny w przypadku kefiru. Liczbę pałeczek *Salmonella* w jogurcie określano co dwie, a w kefirze co cztery godziny. Z każdej próbki przygotowywano serię dziesięciokrotnych rozcieńczeń, a następnie wysiewano na pożywkę BGA. Płytki inkubowano w temp. 37°C przez 24–48 godz. Po określeniu liczby bakterii w 1 cm<sup>3</sup> wyniki poddawano transformacji logarytmicznej oraz obróbce statystycznej przy użyciu programu IBM SPSS Statistics 20. Doświadczenie przeprowadzono w 5 powtórzeniach.

**Wyniki i omówienie:** We wszystkich próbkach napojów fermentowanych liczba pałeczek *Salmonella* zmniejszała się podczas przechowywania w każdej stosowanej temperaturze przechowywania. Największą redukcję pałeczek *Salmonella* w przypadku obu rodzajów napojów zanotowano przy przechowywaniu ich w temperaturze 25°C, a najmniejszą przy przechowywaniu próbek w temp. 5°C. Otrzymane wyniki wskazują, że obniżanie liczby pałeczek *Salmonella* w próbkach jogurtu było większe i następowało szybciej niż w próbkach kefiru. Wydaje się, że wpływ temperatury na tempo obumierania pałeczek *Salmonella* może mieć znaczenie przy opracowywaniu modeli matematycznych przydatnych w mikrobiologii prognostycznej. Porównując otrzymane wyniki z pracami innych autorów, wydaje się, że etap produkcji napojów fermentowanych na którym może dojść do skażenia *Salmonella* sp., odgrywa istotną rolę (po procesie fermentacji czy też przed nim). W wielu pracach obserwowano spadek liczby pałeczek *Salmonella* w fermentowanych napojach mlecznych, jednakże w jednym z badań stwierdzono wzrost pałeczek *Salmonella* w kefirze po skażeniu tymi bakteriami przed procesem fermentacji zachodzącym w temperaturze 23°C.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Karagözlü N., Karagözlü C., Ergönül B., 2007. Survival characteristics of *E. coli* O157:H7, *S. typhimurium* and *S. aureus* during kefir fermentation. Czech J. Food Sci., 25: 202–207.
- [2] Tsai Y.W., Ingham S.C., 1997. Survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in acidic conditions. Journal of Food Protection, 60: 751–755.

Praca wykonana w ramach grantu NCBiR N R 12 0097 06.

## ZMIENNOŚĆ ZANIECZYSZCZENIA BAKTERYJNEGO MIĘSA DROBNEGO W ZALEŻNOŚCI OD KATEGORII ZAKŁADU

### VARIABILITY OF BACTERIAL CONTAMINATION OF MEAT TRIMMINGS IN RELATION TO MEAT PLANT CLASS

Krzysztof Szkucik<sup>1</sup>, Krzysztof Strawa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności  
Zwierzęcego Pochodzenia, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

<sup>2</sup>Powiatowy Inspektorat Weterynarii, ul. Młyńska 1, 38-500 Sanok, e-mail: krzysztof.szkucik@up.lublin.pl

**Cel badań:** Określenie zanieczyszczenia bakteryjnego tusz świń poddawanych rozbiorowi w różnych zakładach mięsnych, klasyfikowanych według kategorii zaproponowanych przez przedstawicieli Komisji Europejskiej.

**Materiał i metody:** Materiał do badania stanowiło 240 próbek mięsa drobnego bez kości klasy II pochodzącego z rozbioru w zakładach mięsnych kategorii: A (spełniających wymogi UE), B1 (bliskich dostosowania do norm UE), B2 (niespełniających norm UE, posiadających plany modernizacji), C (niespełniających norm UE).

Badania obejmowały określenie: obecności pałeczek rodzaju *Salmonella* w 25 g, obecności gronkowców koagulazododatnich w 0,1 g, ogólnej liczby bakterii tlenowych, najbardziej prawdopodobnej liczby drobnoustrojów z grupy *coli*, liczby drobnoustrojów proteolitycznych, liczby drobnoustrojów psychrofilnych w 1 g badanego mięsa. Oznaczenia wykonano wg Polskich Norm i wskazań piśmiennictwa. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej, wyliczając wartości średnie i odchylenia standardowe. Istotność wpływu badanych czynników zmienności określono testem T-Tukey'a na poziomie  $p \leq 0,01$ .

**Wyniki i omówienie:** W żadnej z badanych próbek nie wykazano obecności pałeczek *Salmonella*. Obecność gronkowców koagulazododatnich stwierdzono w trzech próbkach pochodzących z zakładu kategorii C, w jednej próbce z zakładu kat. B1 i w jednej próbce z zakładu kat. B2. Ogólne zanieczyszczenie drobnoustrojami tlenowymi wahało się od  $1,2 \times 10^3$  do  $9,6 \times 10^5$  jtk na 1g. Najwyższe zanieczyszczenie wykazało mięso z rozbioru w zakładzie kat. C. Zanieczyszczenie bakteryjne mięsa drobnego pochodzącego z zakładów kategorii B1 i B2 było podobne. Natomiast najniższe zanieczyszczenie miało mięso pochodzące z rozbioru w zakładzie A. Najbardziej prawdopodobna liczba drobnoustrojów z grupy *coli* wahała się od  $10^2$  do  $5,2 \times 10^3$ /g, a istotność różnic układała się identycznie jak w przypadku ogólnego zanieczyszczenia. Drobnoustroje proteolityczne stanowiły od 28 do 43% ogólnego zanieczyszczenia mikroflorą tlenową. Liczba drobnoustrojów psychrofilnych kształtowała się od  $1,1 \times 10^2$  do  $5,3 \times 10^4$  w 1g badanego mięsa i stanowiła od 7 do 11% ogólnej liczby drobnoustrojów. Istotności różnic w zanieczyszczeniu mikroflorą proteolityczną i psychrofilną kształtowały się podobnie jak w przypadku ogólnego zanieczyszczenia bakteryjnego.

**Podsumowanie:** W ocenie ogólnej, mięso drobne bez kości pochodzące z zakładu kat. A, posiadało stosunkowo niskie zanieczyszczenie bakteryjne i tym samym spełnia podstawowe kryteria mikrobiologiczne. Liczba drobnoustrojów w badanych próbkach istotnie wzrastała wraz z obniżającą się kategorią zakładu, osiągając poziom graniczny ( $10^6$ /g) w zakładzie kat. C. Należy także zaznaczyć, że w zakładzie tym wysoki odsetek ogólnego zanieczyszczenia bakteryjnego stanowiła mikroflora proteolityczna wykazująca możliwość wzrostu w temperaturze chłodni. Również w trzech próbkach mięsa pochodzącego z tego zakładu wykazano obecność gronkowców koagulazododatnich.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych – Dz.Urz. L 338 z 22.12.2005.



## SKŁAD PODSTAWOWY MIĘSA ŚLIMAKÓW JADALNYCH

### CHEMICAL COMPOSITION OF EDIBLE SNAIL MEAT

Monika Ziomek, Krzysztof Szkucik

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: krzysztof.szkucik@up.lublin.pl

Ślimaki stanowią element diety człowieka od tysięcy lat. Są popularnym daniem kuchni francuskiej oraz azjatyckiej. Ich spożycie wynosi na świecie około 30 tysięcy ton i ciągle rośnie. W Polsce ślimaki jadalne pozyskiwane są z hodowli fermowych (*Cornu aspersum maxima*, *Cornu aspersum aspersum*) oraz ze zbiorów wolno żyjącego ślimaka winniczka (*Helix pomatia*). Winniczek, według Rozporządzenia Ministra Ochrony Środowiska uznany jest za gatunek podlegający częściowej ochronie. Jego zbiór dozwolony jest w terminie od 1 do 31 maja. Walory ślimaków ceniono już w starożytnym Rzymie. Ślimakom przypisywano wówczas właściwości lecznicze oraz stosowano je jako afrodyzjaki. Mięso ślimaków bogate jest w wapń, potas, magnez, miedź, cynk i selen, a także w witaminy z grupy B, głównie niacynę. Wartość energetyczna 100 g ślimaków wynosi 90 kcal (377 kJ).

O wartości energetycznej decyduje skład chemiczny.

**Cel badań:** Określenie zmienności zawartości podstawowych składników chemicznych w zależności od gatunku ślimaka.

**Materiał i metody:** Ślimaki po uboju (zasolenie i parzenie) wyjmowano z muszli i oddzielano część jadalną – stopa. Następnie wypreparowane części jadalne poddawano obróbce termicznej (gotowaniu), klasyfikacji wg masy, a w końcowym etapie zamrożeniu. Materiał do badań stanowiło 90 próbek schłodzonego mięsa trzech gatunków ślimaków: winniczka (*Helix pomatia*) i dwóch gatunków ślimaków hodowlanych *Cornu aspersum maxima*, *Cornu aspersum aspersum*. Na wymienionym materiale przeprowadzono następujące oznaczenia: wody – metodą suszarkową, białka całkowitego metodą Kiejdahla, tłuszczu – metodą Soxhleta i określono także ilość popiołu. Oznaczenia te przeprowadzono według wskazań Polskich Norm. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej, wyliczając wartości średnie i odchylenia standardowe. Istotność wpływu badanych czynników zmienności określono testem T-Tukey'a na poziomie  $p \leq 0,01$ .

**Wyniki i omówienie:** Procentowy udział podstawowych składników w mięsie winniczka był nieco odmienny w porównaniu z mięsem ślimaków hodowlanych. Cechowało się ono istotnie wyższą zawartością białka (20,76%), a niższą wody (77,02%). Zawartość białka w mięsie ślimaków hodowlanych była podobna u obu gatunków i wynosiła ok. 15%. Mięso ślimaków cechuje się niską zawartością tłuszczu, którego procentowy udział wahał się od 0,56% w mięsie ślimaka szarego małego, 0,62% w mięsie ślimaka szarego dużego do 0,86% w mięsie winniczka. Nie wykazano jednak istotnych różnic w poziomie tłuszczu pomiędzy badanymi gatunkami ślimaków. Podobnie różnic tych nie stwierdzono w zawartości popiołu, którego poziom wynosił 1,44% w jadalnych częściach winniczka i odpowiednio 0,97 i 1,06% w mięsie CAA i CAM.

**Podsumowanie:** Skład podstawowy jadalnych produktów pozyskiwanych od ślimaków nie różni się zasadniczo od składu podstawowego mięsa chudego zwierząt rzeźnych. W dalszych badaniach konieczne jest jednak określenie, jaki procent białka ogólnego w mięsie ślimaków stanowi kolagen.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Ligaszewski M., Łysak A., Surówka K., 2005. Skład chemiczny mięsa winniczków (*Helix pomatia* L.) z populacji naturalnej i pochodzącej od niej populacji hodowlanej. Rocz. Nauk. Zoot. T. 32. z. 2, 33–45.
- [2] Zymantiene J., Jukna V., Jukna C., Zelvyte R., Oberauskas V., 2008. Comparison of meat quality characteristics between commercial pigs and snails. Pol. J. Food Nutr. Sci., 58, 23–26.



**SEKCJA  
HISTORII MEDYCYNY  
WETERYNARYJNEJ**







## PRZEGLĄD ZBIORÓW PRACOWNI HISTORYCZNEJ ZAKŁADU ANATOMII ZWIERZĄT WYDZIAŁU MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ UP WE WROCŁAWIU

## THE REVIEW OF VETERINARY HISTORY COLLECTION FROM DIVISION OF ANIMAL ANATOMY THE FACULTY OF VETERINARY MEDICINE WROCLAW UNIVERSITY OF ENVIRONMENTAL AND LIFE SCIENCES

**Aleksander Chrószcz, Maciej Janeczek, Norbert Pospieszny**

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Anatomii Zwierząt,  
Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, ul. Kozuchowska 1/3, 51-631 Wrocław,  
e-mail: aleksander.chroszcz@up.wroc.pl*

Dnia 27 grudnia 1880 r. Franciszek Józef I z Bożej Łaski Cesarz Austrii, Apostolski Król Węgier, Król Czech, Dalmacji, Chorwacji, Sławonii, Galicji, Lodomerii i Ilirii, Król Jerozolimy, *ect.* wydaje postanowienie cesarskie, nakazując założenie we Lwowie Szkoły Weterynarii i Szkoły Kucia Koni w połączeniu z Zakładem Leczenia Zwierząt. Jednocześnie wyznacza jej otwarcie na 1 października 1881 r. Utworzenie niniejszej placówki, jako Cesarsko-Królewskiej Szkoły Weterynarii we Lwowie, leżało w gestii Ministerstwa Wyznań i Oświaty, wielki wkład w promowanie idei jej powstania wyłożył Lekarz Naczelny Galicji dr Alfred Biesiadecki. Jako organizatora i pierwszego dyrektora powołano prof. dr. Piotra Seifmanna, ostatniego polskiego dyrektora Szkoły Weterynaryjnej w Warszawie. Od początku istnienia szkoły jej językiem wykładowym był język polski. W roku 1898 zmieniono nazwę na Akademia Weterynarii we Lwowie. W roku 1901 stanowisko mianowanego dyrektora zastąpiono stanowiskiem rektora. Od roku 1908 Akademia uzyskała prawo nadawania stopnia naukowego doktora nauk weterynaryjnych oraz prawo habilitowania docentów. Specjalne rozporządzenie cesarskie z 23 czerwca 1909 r. wprowadziło zasadę obieralności osoby rektora oraz nadawało mu tytuł *Rector magnificus* na czas 2-letniej kadencji.

Ze szkołą weterynaryjną we Lwowie łączy się nie tylko znaczna część zbiorów pracowni historycznej Zakładu Anatomii Zwierząt we Wrocławiu. Wśród nich można wyróżnić indeksy studenckie z różnych okresów historii placówki, protokoły egzaminacyjne i sekcyjne, oryginalną pieczęć Akademii Weterynarii we Lwowie oraz wiele innych. Ze Szkołą Weterynaryjną we Lwowie łączy się powstanie pierwszego polskiego stowarzyszenia lekarzy weterynarii, czyli Galicyjskiego Towarzystwa Weterynarskiego oraz pierwszego polskojęzycznego periodyku weterynaryjnego *Przeгляд Weterynarski*, którego niemal wszystkie numery zachowały się w zbiorach pracowni.

Po zakończeniu Drugiej Wojny Światowej większość pracowników i mienia Akademii Weterynarii we Lwowie, wraz z rewizją granic Polski, znalazło swój nowy dom na Ziemiach Odzyskanych we Wrocławiu. Dziś zbiory Pracowni Historycznej są nie tylko świadectwem historii, ale i ciągłości Lwowsko-Wrocławskiej Akademii Weterynaryjnej. Celem niniejszej pracy jest prezentacja części zbiorów pracowni.

### **Piśmiennictwo:**

- [1] Perenc A., 1958. Historia lecznictwa zwierząt w Polsce. PAN PTNW Wrocław, Warszawa.
- [2] Rotkiewicz T., 2006. Historia weterynarii i deontologia. Wyd. UWM, Olsztyn.
- [3] Tarczyński S., 1990. Zarys historii polskiej weterynarii z podstawami deontologii. PWN, Warszawa.
- [4] Wyrost P., Historia medycyny weterynaryjnej i deontologia. Maszynopis.



## FARMACJA WETERYNARYJNA – HISTORIA I WSPÓŁCZESNOŚĆ

### VETERINARY PHARMACY – HISTORY AND CONTEMPORARY

**Wojciech Cybulski, Katarzyna Kos, Ewa Łysiak, Dorota Krasucka, Agnieszka Klimowicz,  
Aneta Woźniak**

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Farmacji Weterynaryjnej,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: wojciech.cybulski@piwet.pulawy.pl*

Średniowieczne ustawy *Novae constitutiones* cesarza Fryderyka II wprowadzając podział na aptekarzy i lekarzy, zdefiniowały odpowiedzialność za zdrowie ludzi. Zarazem leczenie zwierząt przestało być domeną wyłącznie konowałów. Apteki, np. pierwsza w Polsce w Gnieźnie (1232 r.), zaopatrywały także w leki dla zwierząt. Alchemia, zielarstwo, preparaty galenowe, surowice, szczepionki, chemioterapia, antybiotykoterapia i współczesne, zaawansowane terapie przeplatały się w swoich epokach, oferując dla ludzi i zwierząt leki oparte na samych substancjach czynnych. Wraz z powstaniem szkół weterynaryjnych nauczanie receptury farmaceutycznej stało się nieodzownym elementem programu studiów. Aktualizowane wraz z postępem farmacji stanowią treści nauczania współcześnie realizowanego przedmiotu farmacja weterynaryjna na wydziałach medycyny weterynaryjnej. W strukturze administracji weterynaryjnej funkcjonuje Inspekcja Farmaceutyczna, pełniąc funkcje nadzorczo-kontrolne zgodne z Prawem farmaceutycznym. Od 2007 r. w PIWet-PIB Puławy działa Zakład Farmacji Weterynaryjnej – pierwsza tego typu w Polsce badawcza jednostka zdefiniowana dzięki idei farmacji jako gałęzi nauk weterynaryjnych. Jednostka w Puławach realizuje projekty badawcze jak i od strony legislacyjnej wnosi swój wkład, obok zakładów weterynaryjnej farmakologii i toksykologii, w rozwój nauk weterynaryjnych w zakresie problematyki jakości, skuteczności i bezpieczeństwa stosowania leków, co wpisuje się w ochronę zdrowia publicznego oraz zdrowia i dobrostanu zwierząt.

#### **Piśmiennictwo:**

- [1] Kucharski S., Majewski J., Umbreit M., 2000. Od alchemii do farmacji. Wydawnictwo Kwartet, 2–127.
- [2] Rotkiewicz T., 2006. Historia weterynarii i deontologia, 50–336.
- [3] Felsmann M.Z., 2007. Dawna Medycyna i Weterynaria, 217–224.
- [4] Dzierżawski A., 1985. Nowości Weterynarii, 67–82.
- [5] Dyrektywa 2009/09/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 10 lutego 2009.
- [6] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2009 r. (Dz. U. Nr 74, poz. 636).



## ELEMENTY OCHRONY ZWIERZĄT W PRAWIE CHEŁMIŃSKIM

### THE ELEMENTS OF ANIMALS PROTECTION IN CHELMINSKIE LAW

Mariusz Z. Felsmann

*Wydział Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie, Katedra Patofizjologii, Weterynarii Sądowej i Administracji, Zespół Weterynarii Sądowej i Administracji Weterynaryjnej, ul. Michała Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, emzetef@wp.pl*

Wyprawy krzyżowe, przy całym okrucieństwie i destrukcji, wzbogaciły ówczesną Europę w wiedzę oraz szereg nieznanych na naszym kontynencie umiejętności. Największymi beneficjentami kontaktów ze światem Islamu stały się wielkie zakony rycerskie. Joannici i templariusze ponosząc największy ciężar walki zbrojnej, zaskarbili sobie szacunek muzułmańskich przeciwników, odwzajemniając się im tym samym. Szacunek ten doprowadził do wzajemnego poznania. Zakon Szpitala Najświętszej Maryii Panny Domu Niemieckiego w Jerozolimie, powstały pod koniec panowania europejczyków w Outremer, czerpał od swoich poprzedników – Joannitów i Templariuszy, wzorce gotowe do zastosowania na starym kontynencie. Wiedza o szeroko pojętej gospodarce na owe czasy nieznana była nawet w państwie Fryderyka II Hohenstaufa. Władca ten, zręczny polityk i człowiek o rozległej wiedzy naukowej, popierał krzyżackie plany kolonizacyjne udzielając wsparcia, bodajże najzdolniejszemu z Wielkich Mistrzów, Hermanowi von Salza, umożliwił zakonowi krzyżackiemu przybycie na Ziemię Chełmińską. Krzyżacy, bogaci w wiedzę i doświadczenie, utworzyli system prawny (Przywilej chełmiński) zachęcający ludzi różnych stanów do osiedlania się na Ziemi Chełmińskiej oraz na obszarach podbijanych w czasie krucjat przeciwko Prusom. Przywilej ten, przywoływany w wielu dokumentach lokacyjnych oraz w nadaniach indywidualnych znany jako Prawo Chełmińskie. Dokument wydany po raz pierwszy podczas lokacji Chełmna i Torunia – 28 grudnia 1233 r. – oparty na prawie niemieckim, regulował szereg podstawowych praw i obowiązków mieszkańców, pierwotnie tylko Chełmna i Torunia.

Kontakty z Islamem zaowocowały przejściem wiedzy, między innymi o sokolnictwie, rozrywce władców i elemencie ich prestiżu. Ptaki drapieżne wykorzystywane do polowań były cenne. Nie dziwi zatem, że w Prawie Chełmińskim znalazły się zapisy chroniące siedliska ptasie, podobnie jak siedliska bobrze, przywilej uniemożliwiał swobodne dysponowanie zwierzętami dzikimi, regulował też gospodarkę rybacką, poprzez ograniczenia dostępu do poszczególnych akwenów oraz możliwości używania jedynie określonych sieci.

Oczywistym jest, że zakon krzyżacki był zainteresowany ochroną określonych gatunków zwierząt ze względów czysto merkantylnych, jednakże poprzez Prawo Chełmińskie jest przykładem ograniczeń w swobodnym dysponowaniu zwierzętami nawet na własnym terenie, co przyczyniło się do przetrwania niektórych gatunków zwierząt na licznych obszarach, podczas gdy w tym samym czasie na innych terenach Europy dochodziło do szybkiej eliminacji danych gatunków.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Zielińska-Mielkowska K., 1986. Przywilej Chełmiński 1233 i 1351, Toruń 1986.
- [2] Mazaraki M., 1977. Z sokołami na łowy, Warszawa.
- [3] Trupinda J, 2004. Reguła Zakonu szpitala Najświętszej Marii Panny Domu Niemieckiego w Jerozolimie, Malbork.
- [4] Biskup M., Labuda G., 1986. Dzieje Zakonu Krzyżackiego w Prusach, Gdańsk.
- [5] Biskup M., 1987. Dzieje Chełmna, Toruń.
- [6] Biskup M., 1961. Ziemia Chełmińska w przeszłości (wybór tekstów źródłowych), Toruń.
- [7] Milczarek S., 2003. Kultura łowiecka w świecie islamu, Warszawa.
- [8] Usama ibn Munkiz, 1976. Księga pouczających przykładów (Kitab al I`tibar) w tłum. Józefa Bieleckiego z języka arabskiego, Warszawa.



## WETERYNARIA W CZASACH PRÓBY

## THE VETERINARY IN TIME OF TRIAL

Krzysztof Lutnicki

*Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Chorób Zwierząt Gospodarskich i Koni, ul. Głęboka 30, e-mail: krzysztof.lutnicki@up.lublin.pl*

Każdy ślad odcisnięty na ziemi, w duszach i umysłach, często wbrew naszej woli, niezamierzony, stanowi dla przyszłych pokoleń przewodnik moralny, niewyczerpane źródło wiedzy o czasach i ludziach, którzy tworzyli rzeczywistość, w której przyszło nam żyć i pracować. Pokolenia lekarzy weterynarii poświęcały się doskonaleniu sztuki lekarskiej pod kierunkiem tak znamienitych i wymagających nauczycieli, jak profesor Leyko, Rostański, Konopacki, Stefański, Poplewski, Weigiel, Łopatyński, Gordziakowski i inni. Specyfika miasteczka i okolicznych wsi zamieszkałych przez ludność polską, ukraińską i żydowską wymagała od lekarza umiejętnego postępowania. Społeczności targane wichrami wojen były szczególnie łatwym polem działania dla obcej propagandy, której hasła trafiały na podatny grunt. Zantagonizowane grupy etniczne znajdowały u miejscowego weterynarza zrozumienie i pomoc, był zawsze ponad podziałami, niosąc pomoc lekarską potrzebującym – nie tylko zwierzętom.

**Cel pracy:** Przybliżenie prawdy czasów, których już nie ma, kiedy młody wówczas lekarz bez reszty oddany służbie weterynaryjnej został wytracony z orbity codzienności przez ideologię totalitaryzmu. Kiedy łuny płonących ludzkich siedzib zaczęły wyznaczać granice pomiędzy dotąd od wieków zgodnie żyjącymi obok siebie społecznościami wielokulturowej ziemi. Obowiązki rejonowego lekarza weterynarii i patriotyczna potrzeba integrowania Polaków przez udział w życiu kulturalnym i towarzyskim, które skupiało się wokół dworów i folwarków, nie pozostawiały wiele czasu na rozwijanie zamiłowań, a pełne napięcia życie codzienne nie sprzyjało muzom. Zaraz po wyzwoleniu Lubelszczyzny opuszczali swoje miejsca praktyki i przybywali do Lublina. Witold Lutnicki, Marian Chomiak, Mieczysław Lewandowski, Kazimierz Krysiak, Jan Kałużniacki organizują Wydział Medycyny Weterynaryjnej i przychodnię w drewnianej budzie przy ulicy Lipowej, ciesząc się uznaniem wśród lubelskich właścicieli zwierząt. Oprócz dydaktyki zajmują się tworzeniem pomocy naukowych, powstaje pierwszy skrypt pt. „Zarys osteologii zwierząt domowych” z oryginalnym atlasem wykonanym własnoręcznie – jako jeden z pierwszych podręczników wydanych już w 1945 r. na tworzącym się dopiero Uniwersytecie Marii Curie-Skłodowskiej. Wielu z nich traktowało to jako przystanek na trasie powojennej – dla większości okazało się być sensem, przystanią na resztę życia. Przelotny flirt z nauką i dydaktyką przerodził się w dojrzałą miłość, której bez reszty się poświęcili. O nich ta opowieść.

### Piśmiennictwo:

- [1] Prost E., 2005. Wybitni polscy lekarze weterynarii XX wieku w nauce i zawodzie.
- [2] X lat UMCS, 1954. Lublin





## PRZERWANY LOT – WSPOMNIENIE RETROSPEKTYWNE INTERRUPTED FLIGHT – RETROSPECTIVE REMINISCENCE

Krzysztof Lutnicki<sup>1</sup>, Wojciech Dymek<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Chorób Zwierząt Gospodarskich i Koni, ul. Głęboka 30, e-mail: krzysztof.lutnicki@up.lublin.pl

<sup>2</sup>Sekcja Historii i Deontologii Weterynaryjnej Studenckiego Koła Medyków Weterynaryjnych UP w Lublinie

Historia najnowsza jest najbardziej trudną i niewdzięczną dziedziną dziejopisarstwa. Nie dość, że dotyczy spraw i ludzi żyjących, to i materiał historyczny świeży, nieuleżany – łatwo popełnić błąd w ocenie. Dlatego nie o historii to będzie sprawa, ale o niezwykłym lekarzu weterynarii, któremu dane było odegrać rolę zwykłego człowieka w historii kraju, narodu i zawodu. Takim człowiekiem był lekarz weterynarii Leszek Roman Deptuła. Leszek we wczesnych latach dziecięcych przeprowadził się wraz z rodzicami do Mielca. Już od najmłodszych lat lubił zdrową rywalizację, zawsze grał *fair*. Sport odgrywał bardzo istotną rolę w jego życiu, szczególnie upodobał sobie siatkówkę. W czasach licealnych był zawodnikiem Stali Mielec, z którą odniósł wiele zwycięstw, m.in. zdobył wicemistrzostwo Polski. Po pomyślnym zdaniu egzaminów wstępnych rozpoczął studia na Wydziale Weterynaryjnym AR w Lublinie. Jego wybitny talent organizatorski i cechy osobiste spowodowały, że stosunkowo wcześnie, bo już w 1975 r. został wybrany Prezesem Akademickiego Związku Sportowego Akademii Rolniczej w Lublinie. Mimo niewątpliwej kariery Leszek nigdy się nie wywyższał, zawsze był otwartym, ciepłym, uśmiechniętym i serdecznym przyjacielem. Ta otaczająca go aura ciepła i serdeczności przyciągała do niego ludzi, a także niespotykana wręcz erudycja, łatwość nawiązywania kontaktu ze słuchaczami pozwoliła mu później osiągnąć szczyty politycznej kariery bez politykierskiej skazy.

Od samego początku angażował się w prace w samorządzie zawodowym. Jego działalność polityczna zdecydowanie sprzyjała sprawom weterynarii. W swoim czasie był jedynym lekarzem weterynarii w Parlamencie III Rzeczypospolitej. 10 kwietnia 2010 r. katastrofa polskiego samolotu Tu-154M w Smoleńsku przerwała piękny „lot ku słońcu” współczesnego Ikara, którego życie było opowieścią o człowieku w drodze i wierności ideałom.



## 30 LAT DZIAŁALNOŚCI MUZEUM WETERYNARII W CIECHANOWCU

### 30 YERS OF ACTIVITY OF MUSEUM OF VETERINARY MEDICINE IN CIECHANOWIEC

Jan Tropiło, Grzegorz Jakubik

*Muzeum Weterynarii w Ciechanowcu, e-mail: jatrop@op.pl*

W dniu 5 czerwca 1982 r. otwarto pierwsze w naszym kraju i jedno z nielicznych w Europie Muzeum Weterynarii. Funkcjonuje ono jako dział Muzeum Rolnictwa im. ks. Krzysztofa Kluka w Ciechanowcu. Inicjatorami jego powstania byli lekarze weterynarii z województwa łomżyńskiego i białostockiego. Opiekę merytoryczną nad powstającym muzeum objął w 1980 r. Zarząd Główny PTNW. W uroczystym otwarciu ekspozycji stałej wzięli udział przedstawiciele wielu środowisk weterynaryjnych oraz Ministerstwa Kultury i Sztuki. Z okazji otwarcia Muzeum Weterynarii PTNW oraz ZLiTW zostały wyróżnione Dyplomem Honorowym Ministra Kultury i Sztuki przyznany za osiągnięcia w upowszechnianiu kultury. Powstanie tego muzeum było wydarzeniem kulturalnym na skalę krajową, a jego główni twórcy (mgr Kazimierz Uszyński – dyrektor Muzeum Rolnictwa, doc. Jan Tropiło – pełnomocnik Z.G. PTNW, autor scenariusza wystawy stałej, dr Jan Stypuła – wojewódzki lek. wet. w Łomży, dr Jan Bondarenko – kierownik lecznicy dla zwierząt w Ciechanowcu) otrzymali zespołową nagrodą I stopnia Ministra Kultury i Sztuki dla zwycięzców w konkursie na „Najciekawsze wydarzenie muzealne roku 1982”. Kierownik muzeum lek. wet. Jerzy Jastrzębski otrzymał nagrodę indywidualną za przygotowanie ekspozycji muzealnej.

Aktualnie dyrektorem Muzeum Rolnictwa jest mgr Dorota Łapiak, której zawdzięczamy rozpoczęcie remontu i modernizacji Muzeum Weterynarii i wielką życzliwość dla naszych poczynań. Od 1994 r. pełnomocnikiem Z.G. PTNW do spraw muzeum jest prof. Mirosław Kleczkowski, a od 1993 r. kierownikiem Muzeum Weterynarii został lek. wet. Grzegorz Jakubik, który po studiach uzupełniających na Uniwersytecie Jagiellońskim uzyskał tytuł starszego kustosa. Obecnie zbiory Muzeum Weterynarii liczą 4728 eksponatów (stan na 01.01.2012). Olbrzymią ich większość otrzymano w darze od lekarzy i techników weterynarii, ich rodzin, osób z innych zawodów oraz od instytucji i organizacji weterynaryjnych. Ekspozycja stała podzielona jest na 19 działów. Muzeum posiada również bogaty księgozbiór liczący blisko 2000 woluminów, a także kolekcję prasy weterynaryjnej z XIX i XX w. Głównymi ofiarodawcami eksponatów dla Muzeum Weterynarii w Ciechanowcu spośród osób prywatnych byli: dr Jan i Urszula Bondarenkowie z Ciechanowca, lek. wet. Antoni Heinsch z Krotoszyna, dr Stefan Jakucewicz i mgr inż. Stefan Jakucewicz z Łodzi, prof. Henryk Maciołek z Piotrkowa Trybunalskiego, Bogusław Mrygoń z Warszawy, Danuta Kościelniak z Leszna, lek. wet. Bohdan i Stefania Ładyżyńscy z Przemyśla, prof. Bohdan Rutkowiak z Gdańska, lek. wet. Władysław Surowiecki z Czułczyc, lek. wet. Marian i Wiktoria Tabinowie z Wyszkowa, lek. wet. Jerzy Zuberbier z Warszawy, Barbara Zys z Rzeszowa. Pracownicy i działacze społeczni skupieni wokół Muzeum Weterynarii byli organizatorami lub współorganizatorami około trzydziestu sesji naukowych, zebrań lub spotkań związanych z działalnością Komitetu Nauk Weterynaryjnych PAN, PTNW, ZLiTW, Krajowej Izby Lek.-Wet., Wojewódzkich Zakładów Weterynarii w Łomży i Białymstoku. Zorganizowano również wiele wystaw czasowych i spotkań okolicznościowych. Nawiązano współpracę z podobnymi muzeami. Do osób zasłużonych w działalności naukowej, popularyzatorskiej, edytorskiej, wystawienniczej związanej z Muzeum Weterynarii, oprócz wcześniej wspomnianych, należą: rektorzy SGGW prof. W. Barej, prof. T. Borecki i prof. W. Kluciński oraz prof. Tadeusz Frymus, doc. Stefan Jakubowski, dr Leszek Kiszczak, prof. Franciszek Kobryńczuk, dr A. Bacharewicz, dr J. Krupa, prof. N. Pospieszny, doc. S. Pytel, prof. B. Rutkowiak, prof. P. Sysa, prof. P. Wyrost, prof. Cz. Waszkiewicz, lek. wet. A. Sacewicz, E. Pańnicki i wielu innych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Tropiło J., Jakubik G., 2007. W XXV rocznicę utworzenia Muzeum Weterynarii w Ciechanowcu, Wspomnienia o profesorze Bareju w XXV-lecie Muzeum Weterynarii w Ciechanowcu, Wyd. SGGW, Warszawa, 9–18.



## ALEKSANDER PERENC (1888–1958) ZASŁUŻONY HISTORYK WETERYNARII

### ALEKSANDER PERENC (1888–1958) MERITORIOUS HISTORIAN OF VETERINARY MEDICINE

Jan Wiśniewski<sup>1</sup>, Marek Nowicki<sup>2</sup>

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Ośrodek Historii Weterynarii i Deontologii przy Katedrze Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, <sup>2</sup>Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: jan\_wisniewski1@sggw.pl*

Aleksander Perenc urodził się 23 lipca 1888 r. w Hawłowicach w pow. jarosławskim w woj. rzeszowskim. Po skończeniu szkoły średniej w 1908 r. rozpoczął studia w Akademii Weterynarii we Lwowie, którą ukończył w 1913 r. W tej samej uczelni uzyskał doktorat medycyny wet. w 1926 r. W latach 1913–1914 odbywał obowiązkową służbę w armii Austro-Węgier, a następnie od 1914 do 1918 r. uczestniczył w I wojnie światowej jako podlekarz weterynaryjny rezerwy CK armii. W 1918 r. wstąpił w szeregi odrodzonego Wojska Polskiego, w którym służył w formacjach liniowych, w Centrum Wyszkozenia Kawalerii w Grudziądzu, w Ministerstwie Spraw Wojskowych w Warszawie do lipca 1939 r., do momentu przejścia w stan spoczynku w stopniu majora lek. wet. Powołany do służby czynnej po wybuchu II wojny światowej, uczestniczył w kampanii wrześniowej 1939 r. jako komendant Szpitala Polowego Koni nr 113. W czasie okupacji niemieckiej prowadził w Warszawie lecznicę dla zwierząt i utrzymywał się z prywatnej praktyki weterynaryjnej. Po wybuchu powstania warszawskiego w sierpniu 1944 r. został uwięziony i wywieziony do obozu koncentracyjnego Mauthausen-Gusen na terenie Austrii. Powrócił do Polski w maju 1946 r. i pracował jako lekarz weterynaryjny w Jabłonowie Pomorskim, Lipnie i Kozach. Zainteresowanie Perenca historią weterynarii datuje się od 1922 r. i było związane z powierzeniem mu przez przełożonych przygotowania wykładów z historii weterynarii wojskowej w Polsce dla przechodzących przeszkolenie w Centrum Wyszkozenia Kawalerii w Grudziądzu licznych lekarzy weterynarii. W 1926 r. opublikował we Lwowie w *Przeglądzie Weterynaryjnym* swoją pierwszą publikację historyczną – „Historię weterynarii wojskowej w Polsce”, która stała się podstawą jego pracy doktorskiej. Następne prace dotyczyły studiów nad dziejami ogłędzin mięsa w Polsce (1927), weterynarią sądową średniowiecza w Polsce (1927) oraz sprawą istnienia szkoły weterynaryjnej w Grodnie w końcowych latach istnienia pierwszej Rzeczypospolitej (1928). Opublikował także swoje prace nad najstarszymi drukami weterynaryjnymi w Polsce (1932 i 1955). W 1936 r. zostało wydane w Toruniu najważniejsze dzieło Perenca – „Historia lecznictwa zwierząt w Polsce”. Była to pierwsza publikacja obejmująca całość historii weterynarii w Polsce, od najdawniejszych czasów, aż do odzyskania przez Polskę niepodległości w 1918 r. W okresie międzywojennym Perenc zgromadził bardzo cenny zbiór dzieł i przedmiotów o tematyce weterynaryjnej i historycznej, liczący ponad 600 tomów. Niestety, zbiory te uległy zniszczeniu w czasie powstania warszawskiego w 1944 r. Po II wojnie światowej Perenc opublikował kolejne prace historyczne: o weterynarii w najstarszych szkołach rolniczych w Polsce (1949), o szkole weterynarii w Burakowie pod Warszawą i jej dyrektorze Adamie Rudnickim (1950) i inne. W 1949 r. został powołany przez Polską Akademię Umiejętności do Komisji Historii Medycyny i Nauk Matematycznych, od 1954 r. był współpracownikiem naukowym Komitetu Historii Nauki Polskiej Akademii Nauk, należał do polskich i niemieckich towarzystw naukowych, był także członkiem Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych. Zmarł 9 kwietnia 1958 r. w Nienadowej pod Przemyślem i spoczywa na tamtejszym cmentarzu.

#### Piśmiennictwo:

- [1] *Medycyna Wet.*, 1958, 5, 315.
- [2] Millak Konrad, *Słownik polskich lekarzy weterynaryjnych biograficzno-bibliograficzny 1394–1918*, PWRiL, Lublin, Warszawa 1960–1963, 173.
- [3] Prost Edmund K., 2005. *Wybitni polscy lekarze weterynarii XX wieku w nauce i zawodzie*, Lubelskie Towarzystwo Naukowe, Lublin 296.



## 30 LAT ODDZIAŁU ŁOMŻYŃSKO-OSTROŁĘCKIEGO POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

### 30<sup>TH</sup> ANNIVERSARY OF POLISH SOCIETY VETERINARY SCIENCES THE LOMZA-OSTROLEKA DIVISION

**Tomasz Jasiński<sup>1</sup>, Marian Czerski<sup>1</sup>, Emilian Kudyba<sup>1</sup>, Józef Białowąs<sup>1</sup>, Krzysztof Lutnicki<sup>2</sup>,  
Zdzisław Gajewski<sup>1</sup>, Tadeusz Jakubowski<sup>1</sup>, Mirosław Kleczkowski<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa, e-mail: tovet@o2.pl*

<sup>2</sup>*Uniwersytet Przyrodniczy, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin*

Bardzo dobry klimat do rozwoju myśli naukowo-zawodowej powstał wraz z utworzeniem województwa łomżyńskiego i ostrołęckiego. Wynikiem szybko rozwijającego się innowacyjnego nurtu weterynaryjnego stało się między innymi powołanie w dniu 10 grudnia 1982 r. Oddziału Łomżyńskiego Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych. W roku 1992 Oddział Łomżyński PTNW rozszerzył swą działalność także na obszar województwa ostrołęckiego, zmieniając jednocześnie nazwę na Oddział Łomżyńsko-Ostrołęcki. Posunięcie to stanowiło naturalne wydarzenie wywodzące się z bliskości terytorialnej, wspólnych zainteresowań, zamierzeń, planów, zapotrzebowania na wiedzę, dobrze rozumianych ambicji i aspiracji. Oddział Łomżyńsko-Ostrołęcki rozwijał się jeszcze bardziej dynamicznie. W ciągu szesnastoletniego okresu funkcjonowania oddziału (8 kadencji), gdy jego przewodniczącym był prof. hab. dr hab. M. Kleczkowski, zorganizowano ponad 200 różnych konferencji, zjazdów seminariów i sympozjów zaś 22 lekarzy weterynarii uzyskało stopień doktora nauk. Oddział był inicjatorem i realizatorem wielu zagranicznych wyjazdów grupowych lekarzy weterynarii. Z inicjatywy Oddziału Łomżyńsko-Ostrołęckiego PTNW przy wsparciu ówczesnego rektora prof. dr hab. Włodzimierza Klucińskiego rozpoczęto także organizowanie pierwszej uczelni państwowej w Łomży jako filii SGGW, ukierunkowanej na technologię żywności i żywienie człowieka. W dniu 1 stycznia 1999 r. wprowadzono w Polsce nowy podział administracyjny, zastępujący wcześniejszy dwustopniowy, trójstopniowym, w wyniku którego województwo łomżyńskie i ostrołęckie przestało istnieć. W roku 1999 Oddział Łomżyńsko-Ostrołęcki PTNW został rozwiązany. Pomimo tego nadal prowadzono bardzo aktywną działalność szkoleniową i popularyzatorską promującą naukę i praktykę weterynaryjną.

Na mocy uchwały podjętej w dniu 15 marca 2010 r. przez Zarząd Główny PTNW w Warszawie reaktywowano Oddział Łomżyńsko-Ostrołęckiego PTNW. W dniu 28 lipca 2010 r. odbyło się nadzwyczajne walne zebranie członków oddziału. Podczas zebrania dokonano wyboru władz Towarzystwa na czele z prezesem lek. wet. Józefem Białowąsem. Wznowienie pracy Oddziału Łomżyńsko-Ostrołęckiego Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych z pewnością dobrze służy polskiej praktyce i nauce, szczególnie na terenach o doskonale rozwijającej się hodowli bydła mlecznego, położonych między Białymstokiem a Olsztynem i Warszawą.

#### **Piśmiennictwo:**

[1] Kleczkowski M., 1982. Kronika Oddziału Łomżyńsko-Ostrołęckiego PTNW O. Ł., Łomża, 1–32.



## 50 LAT MUZEUM ROLNICTWA IM. KRZYSZTOFA KLUKA ORAZ 30 LAT MUZEUM WETERYNARII W CIECHANOWCU

### 50<sup>TH</sup> ANNIVERSARY OF KRZYSZTOF KLUK AGRICULTURE MUSEUM AND 30<sup>TH</sup> ANNIVERSARY OF VETERINARY MUSEUM IN CIECHANOWIEC

**Tomasz Jasiński<sup>1</sup>, Mirosław Kleczkowski<sup>1</sup>, Włodzimierz Kluciński<sup>1</sup>, Krzysztof Lutnicki<sup>2</sup>,  
Zdzisław Gajewski<sup>1</sup>, Tadeusz Jakubowski<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa, e-mail: tovet@o2.pl*

<sup>2</sup>*Uniwersytet Przyrodniczy, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin*

Z inicjatywy członków Towarzystwa Miłośników Ciechanowca w roku 1962 utworzone zostało Muzeum Rolnictwa. Fakt ten zapoczątkował bardzo korzystny okres rozwoju dla społeczności Ciechanowca. Muzeum Rolnictwa nadano imię księdza Krzysztofa Kluka, wybitnego przyrodnika okresu Oświecenia, entuzjasty nauk przyrodniczych, który urodził się w roku 1739 w Ciechanowcu. W końcu lat siedemdziesiątych ubiegłego stulecia dzięki inicjatywie członków Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych oraz Zrzeszenia Lekarzy i Techników Weterynarii, weterynaryjnego środowiska łomżyńskiego i białostockiego, przy ogromnym zaangażowaniu prof. dr. hab. Jana Tropiło, zrodził się pomysł utworzenia początkowo stałej wystawy poświęconej weterynarii. Wystawę zorganizowano w dawnej stajni pałacowej – opuszczonych w roku 1978 pomieszczeniach lecznicy zwierząt. Po wieloletnim wysiłku 5 czerwca 1982 r. doszło do uroczystego otwarcia Muzeum Weterynarii w Ciechanowcu. Z inicjatywą sprawowania opieki merytorycznej nad zorganizowanym Muzeum Weterynarii przez Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych wystąpił ówczesny dyrektor Muzeum Rolnictwa mgr Kazimierz Uszyński. W dniu 5 czerwca 1982 r., dzięki inicjatywie i zaangażowaniu szczególnie prof. dr. hab. Jana Tropiło, który opracował scenariusz Muzeum Weterynarii, dr. Jana Bondarenko, dr. Jana Stypuły, dr. Anatola Bacharewicza i wielu innych powstało pierwsze w Polsce Muzeum Weterynarii przy Muzeum Rolnictwa w Ciechanowcu. Projekty wnętrz zostały wykonane według koncepcji artysty plastyka Tadeusza Bochena i Sławomira Chudzika. Portrety wybitnych profesorów nauk weterynaryjnych wykonał artysta malarz Marek Bojarski. Obecnie ekspozycja muzealna składa się z 19 działów i 5 poddziałów. W dniach 17–18 maja 2012 roku odbyły się główne uroczystości się Jubileuszu 50-lecia Muzeum Rolnictwa.

Pomimo wielu dokonań i sukcesów, jakie odniosła dotychczas ta znakomicie prowadzona placówka, muzeum może być wykorzystywane jeszcze w większym zakresie niż dotychczas. Posiada ogromne możliwości dalszego rozwoju, promując jednocześnie zarówno zawód lekarza weterynarii, jak i nauki weterynaryjne. Muzeum może stać się ośrodkiem promocji informacji o praktyce i naukach weterynaryjnych i wówczas będzie miało większe szanse dalszego rozwoju i upowszechniania dorobku.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Tropiło J., 1982. Pierwsze Muzeum Weterynarii w Polsce zaprasza zwiedzających, *Życie Wet.*, 57:3, 163–166.





## HERMANN LUDWIG FERDINAND VON HELMHOLTZ (1821–1894) – WYNAŁAZCA OFTALMOSKOPU

## HERMANN LUDWIG FERDINAND VON HELMHOLTZ (1821–1894) – THE INVENTOR OF THE OPHTHALMOSCOPE

Joanna Klećkowska-Nawrot, Renata Nowaczyk

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Anatomii Zwierząt,  
Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, ul. Kozuchowska 1/3, 51-631 Wrocław,  
e-mail: lestat\_v@poczta.onet.pl

Hermann Ludwig Ferdinand von Helmholtz urodził się 31 sierpnia 1821 r. w Poczdamie, w pobliżu Berlina. W 1838 r. rozpoczął studia w Instytucie Medycyny Fryderyka Wilhelma, pod kierunkiem znanego fizjologa i anatoma Johanna Mullera. W październiku 1843 r. ukończył praktykę medyczną i otrzymał posadę chirurga Królewskich Huzarów w Poczdamie. W pracy dyplomowej na temat układu nerwowego zwierząt bezkręgowych połączył swoje zainteresowania z fizjologią, fizyką i elektrycznością. W 1848 r. wykładał anatomię w Berlinie, a potem fizjologię i patologię w Królewcu. W 1851 r. Helmholtz wynalazł oftalmoskop, za pomocą którego można było po raz pierwszy zbadać dno oka i siatkówkę. Zasada działania ustalona przez Helmholtza polega na tym, że promienie światła trafiając przez źrenicę oka badanego, są częściowo pochłaniane przez siatkówkę i naczyniówkę, a częściowo odbite od dna ocznego i wracają tą samą drogą do źródła, z którego wyszły. Badający może zobaczyć dno oka pacjenta, gdy jego oko znajdzie się na drodze promieni odbitych. Berliński oftalmolog Albrecht von Graefe wprowadził lustro Helmholtza do diagnostyki chorób oczu. Helmholtz zbudował również oftalmometr do pomiaru krzywizny oka, co umożliwiło ilościowe badanie astygmatyzmu – „Astygmatyzm” (1862) i „Anomalie oka” (1864). Helmholtz przedstawił wyniki przeprowadzonych przez siebie badań wzroku w opublikowanej w 1856 r. książce „Handbuch der Physiologischen Optik”. W 1852 r. po raz pierwszy oszacował prędkość przewodzenia impulsu nerwowego. Zmodyfikował teorię postrzegania kolorów Thomasa Younga, dzięki czemu zyskała ona powszechną akceptację. Przeprowadził również szczegółowe badania struktury ucha, dokonując ważnych odkryć w akustyce, opracował też rezonansową teorię słuchu. Od 1855 r. pracował w Bonn, a potem od 1858 w Heidelbergu. W 1860 r. przyjęto go do Royal Society of London. W 1870 r. objął Katedrę Fizyki na Uniwersytecie w Berlinie a w latach 1877–1878 był rektorem tegoż Uniwersytetu. W roku 1873 otrzymał Medal Copleya. Jego nazwiskiem nazwano krater na Księżycu (1935) i na Marsie (1973). Zmarł na skutek wylewu 8 września 1894 r. w Charlottenburgu.

### Piśmiennictwo:

- [1] Cahan D., 1993. Hermann Ludwig Ferdinand von Helmholtz and the Foundations of Nineteenth Century Science, Los Angeles: University of California Press, ISBN 0-520-08334.
- [2] Erzepki B., 1896. Spis członków Towarzystwa Przyjaciół Nauk w Poznaniu, Poznań.
- [3] Farge M. 2004. Hermann von Helmholtz, in Multimedia Fluid Mechanics, Cambridge: Cambridge University Press.
- [4] Otis L., 2007. Müller's Lab, ISBN13: 9780195306972, ISBN10: 019530697X, 336.
- [5] Schett A., 1999. The discovery of the ophthalmoscope by Hermann von Helmholtz, Strabismus, 7 (4): 241–244.
- [6] <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/260507/Hermann-von-Helmholtz/11593/Additional-Reading>.



## LOUIS ÉMILE JAVAL (1839–1907) – WYNAŁAZCA OFTALMOMETRU

### LOUIS ÉMILE JAVAL (1839–1907) – THE INVENTOR OF THE OPHTHALMOMETR

Joanna Klećkowska-Nawrot, Renata Nowaczyk

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Anatomii Zwierząt,  
Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, ul. Kozuchowska 1/3, 51-631 Wrocław,  
e-mail: lestat\_v@poczta.onet.pl

Louis Émile Javal (1839–1907) jest pionierem w historii ortoptyki. Stworzył on wiele urządzeń optycznych, z których najważniejszy był ophthalmometr Javal-Schiøtza. Nazywany jest często Ojcem Ortoptyki. W 1896 r. napisał książkę *Manual of Strabismus*. Połączył on technikę refrakcji z retinoscopią i keratometrią. Louis Émile Javal urodził się 9 maja 1839 r. w Paryżu. Javal uczęszczał do Bonaparte College w Paryżu, następnie w 1859 r. wstąpił do School of Mines w Paryżu, gdzie studiował inżynierię. W czasie swojej nauki wykazywał duże zainteresowanie fizjologią optyki. Tłumaczył również na język francuski artykuły z dziedziny oftalmologii napisane przez Helmholtza oraz Dondersa. W 1863 r. skończył studia, uzyskując tytuł inżyniera budownictwa lądowego i wodnego i przez rok pracował w kopalni w Hérault. W 1865 r. rozpoczął studia medyczne na Uniwersytecie Medycznym w Paryżu, na którym jako student pisał artykuły na temat astygmatyzmu i ortoptyki. W 1868 r. skończył studia medyczne i wyjechał do Berlina, gdzie studiował u Albrechta von Graefe. W tym roku również napisał pracę doktorską pt. *Du strabisme dans ses applications a la theorie de la vision* – w której pisał o zezie i jego wpływie na proces widzenia. W 1870 r. wrócił do Paryża, gdzie dostał powołanie do służby medycznej w wojnie francusko-pruskiej. W 1878 r. został I dyrektorem Laboratorium Oftalmologii na Sorbonie. Współpracował on ze Schiøttem tworząc oftalmoskop i z Tscherningem, z którym prowadził badania na temat optyki, a w szczególności astygmatyzmu. W 1885 r. został wybrany do Akademii Medycznej. Javal pisał również artykuły naukowe do *Annals d'oculistique*. W 1907 r. został zaproszony do wygłoszenia szeregu wykładów w Ophthalmological Society w Wielkiej Brytanii. Javal interesował się astygmatyzmem, keratometrią i zezem, który przejawiał się w jego rodzinie (dziadek, ojciec, siostra, siostrzeniec i siostrzenica), chociaż sam na niego nie chorował. Cierpiał na silny astygmatyzm, chroniczne zapalenie spojówek i heterochromię. Javal odkrył, że amblyopia może spowodować zez, a nie być jego przyczyną. Stwierdził również, że hyperopia, anisometropia i astygmatyzm mają wpływ na rozwój zez. Używał również środków farmakologicznych w leczeniu zez, np. stosował atropinę do penalizacji oka i w leczeniu esotropii. W wieku 45 lat zapadł na jaskrę prawego oka. W 1885 r. poddał się operacji przeprowadzonej przez Priestleya Smitha, która się nie powiodła i 4 lata później stracił wzrok w tym oku. Przed 62. rokiem życia Javal stracił wzrok całkowicie (wcześniej poddał się iridectomii, która nie poprawiła mu wzorku). W 1903 r. Javal napisał książkę pt. *Entre Aveugles (Among the Blind)*, w której zawarł porady i opisy różnych urządzeń, ułatwiających życie osobom niedowidzącym i niewidomym. Louis Emile Javal zmarł 29 stycznia 1907 r. na raka żołądka. Życzeniem zmarłego była kremacja ciała z wyjątkiem lewego oka, które zostało przekazane Priestleyemu Smithowi. Zostało ono wyłuszczone przez Tscherninga i wysłane do Priestleya Smitha w Birmingham. Louis Émile Javal był skromnym, życzliwym człowiekiem i płodnym naukowcem.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Roper-Hall G., Historical Vignette: Louis Emile Javal (1839–1907): The Father of Orthoptics. *American Orthoptical Journal*, 2007, 57, 131–136.

**ONKOLOGIA WETERYNARYJNA – ROZWÓJ I ZNACZENIE****THE VETERINARY ONCOLOGY – DEVELOPMENT AND IMPORTANCE****Renata Nowaczyk, Joanna Klećkowska-Nawrot**

*Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, Zakład Anatomii Zwierząt, ul. Kozuchowska 1/3, 51-631 Wrocław, e-mail:Renata.nowaczyk@up.wroc.pl*

Wraz z rozwojem medycyny weterynaryjnej wyraźnemu wzrostowi uległa liczba diagnozowanych chorób nowotworowych. Coraz większe znaczenie w ich rozpoznawaniu i leczeniu zaczęła mieć wyodrębniająca się onkologia weterynaryjna. Ponieważ zwierzęta podobnie jak ludzie narażone są na te same czynniki ryzyka, wzrasta wśród nich liczba przypadków zmian nowotworowych. Nowotwory, a szczególnie zmiany złośliwe, stają się coraz poważniejszym problemem, stanowiąc główną przyczynę śmierci ludzi i zwierząt. Wśród nowotworów zwierząt najczęściej diagnozowane są nowotwory skóry oraz gruczołu sutkowego. Wiele z występujących u zwierząt nowotworów ma etiologię wirusową, której poznanie pozwoliło stworzyć system badań i szczepień, skutecznie zmniejszających liczbę ich przypadków.

Choroby nowotworowe towarzyszą ludziom i zwierzętom od początku ich istnienia. Pierwsze nowotwory zostały opisane już 3000 lat p.n.e. w starożytnym Egipcie. Najstarszy opis raka u człowieka znaleziono w egipskich papirusach napisanych pomiędzy 3000–1500 r. p.n.e. Dwa z nich znane jako papirusy Edwina Smitha i Georgea Ebersa zawierają szczegóły opisu zmian nowotworowych. W papirusie Edwina Smitha opisano 8 przypadków guzów i owrzodzeń piersi. Hieroglify i papirusy sugerują, że starożytni byli w stanie rozróżnić guzy łagodne od złośliwych. Początki rozwoju onkologii, w tym onkologii klinicznej sięgają czasów starożytnej Grecji oraz Imperium Rzymskiego, gdzie ludzie tacy jak Hipokrates zaczęli rozpoznawać i leczyć raka. Rozwój znieczulenia i metod aseptyki wyraźnie poprawił leczenie chirurgiczne, w tym leczenie nowotworów. Z czasem metody leczenia raka stawały się coraz bardziej inwazyjne, gdyż długoletnie obserwacje wskazywały, że leczenie zachowawcze skutkuje wieloma wznowami. Jednak nawet agresywne leczenie nie zawsze zabezpieczało przed wznową i śmiercią, zwracając coraz większą uwagę na wykrywanie przerzutów. Przez wiele lat biolodzy, onkolodzy, patolodzy i genetycy wspólnie wyjaśniali biologię nowotworów, tworząc metody ich leczenia. W rezultacie współczesna onkologia kliniczna wykorzystuje techniki, a modele leczenia takie jak chemioterapia i radioterapia stosowane w medycynie ludzkiej przenoszone są również do medycyny weterynaryjnej.

Postęp w leczeniu nie byłby możliwy bez zaawansowanych technik obrazowania, takich jak ultrasonografia, scyntygrafia, tomografia, rezonans magnetyczny, oraz rozwoju patologii (szczególnie zasługi Rudolfa Virchowa), w tym określania rodzaju nowotworu i stopnia złośliwości histologicznej, a także metod immunohistochemicznych z użyciem licznych markerów wykorzystywanych od lat w medycynie ludzkiej. Onkologia weterynaryjna stara się dorównać onkologii ludzkiej, a badania przeprowadzane na zwierzętach mają też pomóc w leczeniu ludzi.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Gillette E.L., 1997. History of veterinary radiation oncology. *Vet. Clin. North Small Anim. Pract.*, 27, 1–6.
- [2] Rehemtulla A., 2010. Dinosaurs and ancient civilizations: reflections on the treatment of cancer. *Neoplasia*, 12, 957–968.
- [3] Madewll B.R., 1981. Neoplasms in domestic animals: a review of experimental and spontaneous carcinogenesis. *Yale J. Biol. Med.*, 54, 111–125.



## LEKARZE WETERYNARII – POECI

## DOCTORS OF VETERINARY MEDICINE – POETS

Marek Nowicki, Jan Wiśniewski

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: marek\_nowicki@sggw.pl*

Wykonywanie zawodu lekarza weterynarii wiąże się z koniecznością radzenia sobie ze skrajnymi emocjami, które pojawiają się podczas codziennych obowiązków. Są to czasem chwile wspaniałe, wręcz magiczne. Niestety, częściej zdarzają się sytuacje, które wolelibyśmy szybko zapomnieć. Mogłoby się wydawać, że lekarz weterynarii powinien być zupełnie pozbawiony emocji, a jednak zaskakująco często spotykamy kolegów, którzy w poezji znajdują ukojenie.

Wielu z tych, którzy podejmą trud przelania swoich uczuć na papier, trzyma swoje wiersze w szufladzie. Niektórzy z nich odważą się przeczytać swoje wiersze lub opublikować, ale tylko nieliczni odnoszą na tym polu prawdziwe sukcesy. Wśród nich są również lekarze weterynarii.

W 2010 r. została podjęta inicjatywa ze strony Izby Lekarsko-Weterynaryjnej opublikowania tomiku wierszy autorstwa lekarzy weterynarii. Tomik w formie antologii został wydany z okazji 20. rocznicy utworzenia izby lekarsko-weterynaryjnej. Tematyka wierszy jest związana z kontaktem człowieka z przyrodą, w tym ze zwierzętami oraz ekologią. Profesor Franciszek Kobryńczuk jako wykładowca anatomii na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie często przekazywał studentom wierszyki edukacyjne pomagające metodą mnemotechniczną zapamiętać trudne szczegóły anatomii zwierząt. Twórczość profesora Kobryńczuka nie ogranicza się jednak tylko do wierszyków dla studentów. Jest bardzo dobrze znany również poza środowiskiem akademickim i weterynaryjnym. Doktor Dariusz Jaworek, podobnie jak profesor Kobryńczuk, przez wiele lat był wykładowcą na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie, w Katedrze Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego. Wielokrotnie zadziwiał, pokazując jak w sposób żartobliwy i jednocześnie elegancki można napisać o czynnościach prozaicznych i pozbawionych uroku takich jak badanie mięsa. Zadebiutował w 2002 r. tomikiem wierszy „Witraże”. Poza poezją Dariusz Jaworek realizuje swoje pasje artystyczne również w malarstwie i muzyce. Kolejnym poetą o którym warto napisać, jest Robert Janowski, z wykształcenia lekarz weterynarii, jednak swoje życie poświęcił pracy artystycznej. Wydał cztery tomiki poezji, jest również aktorem i muzykiem. Bardzo ciekawą postacią jest lekarz weterynarii Jan Drechsler – założyciel Tarnogórskiego Kabaretu Literackiego, poeta, prozaik, autor większości tekstów kabaretu Tarnina. Serial telewizyjny „Popielec” został zrealizowany na podstawie powieści lekarza weterynarii Włodzimierza Kłaczyńskiego. Ekranizacja jego powieści otrzymała w 1985 r. Nagrodę Złotego Ekranu w Chianchiano Terme.

To tylko wybrani literaci – lekarze weterynarii i zaledwie skrawek ich twórczości. Warto jednak pisać o nich i prezentować ich twórczość, gdyż przyczyniają się oni do kształtowania pozytywnego wizerunku środowiska lekarsko-weterynaryjnego.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Cywińska-Dziekońska M., 2007. W stronę nieustannego dzieciństwa – o poezji Franciszka Kobryńczuka, [w:] XXV lat Muzeum Weterynarii sesja historii weterynarii. Osiągnięcia lekarzy weterynarii w działalności pozazawodowej i osób innych zawodów dla rozwoju weterynarii. Monografia. Ciechanowiec 21–27.
- [2] Jaworek D., 2010. Dedykacje spod znaku Chirona. Warszawa, Agencja Wydawnicza i Reklamowa Akces, ISBN 978-83-62761-04-3.
- [3] Drechsler J., Strona kabaretu Tarnina <http://www.kabaret-tarnina.pl/>.
- [4] Stachura E., Wszystko jest poezją – każdy jest poetą, Miesięcznik Literacki 1974 (10).
- [5] Szweda S., Strona internetowa <http://www.sylwester.efbud.com.pl/>
- [6] Strona internetowa Krajowej Izby Lekarsko-Weterynaryjnej [www.vetpol.org.pl](http://www.vetpol.org.pl).



## WARMIŃSKO-MAZURSKI PORTAL WETERYNARYJNY JAKO PRZYKŁAD WSPÓŁCZESNYCH MOŻLIWOŚCI TWORZENIA HISTORII WETERYNARII

### WARMIA AND MAZURY WEB VETERINARY PORTAL AS EXAMPLE OF CONTEMPORARY CAPABILITY OF ESTABLISH OF VETERINARY HISTORY

Tadeusz Bakuła

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Higieny Pasz, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, Polska, e-mail: bakta@uwm.edu.pl*

Wydział Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie pod koniec 2010 r. uzyskał fundusze na realizację projektu pt. „Utworzenie Warmińsko-Mazurskiego Portalu Weterynaryjnego (WMPW) wraz z budową baz danych i digitalizacją zasobów” w ramach: Regionalnego Programu Operacyjnego Warmia i Mazury na lata 2007–2013, w osi priorytetowej 7 – Infrastruktura społeczeństwa informacyjnego, działanie 7.2. – Promocja i ułatwianie dostępu do usług teleinformatycznych, poddziałanie 7.2.2. Usługi i aplikacje dla MŚP.

Głównym celem projektu była budowa portalu z zakresu weterynarii, administrowanego przez Wydział Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie. Cele cząstkowe to: – budowa aktywnej strony internetowej spełniającej wymogi komunikacji on-line z obywatelami na trzech poziomach – informacyjnej, interakcji i dwustronnej interakcji; – zakup aparatury i oprogramowania do digitalizacji (w tym skanera do preparatów mikroskopowych, skanera 3D, zestawów do makrofotografii i zestawów komputerowych do digitalizacji dokumentów i obrazów) i do gromadzenia danych; – stworzenie cyfrowych tematycznych baz danych na poziomie poszczególnych Katedr.

WMPW został zrealizowany jako serwis WWW ([www.wet.uwm.edu.pl](http://www.wet.uwm.edu.pl)), jest dostępny w sieci Internet z wydzieleniem części ogólnie dostępnej dla użytkowników anonimowych oraz części dostępnej po uwierzytelnieniu użytkownika. Serwis jest złożony z dwóch struktur: portalu zewnętrznego – dla „klientów” Wydziału i portalu wewnętrznego – dla pracowników i studentów Wydziału. Portal zewnętrzny jest elektroniczną platformą umożliwiającą publikację i prezentację informacji z różnych dziedzin weterynarii w kategorii aktualności, wiedza ogólna i wiedza specjalistyczna. Publikować może każdy, kto zarejestruje i zaloguje się do Portalu, treści zostaną upowszechnione po akceptacji administratora.

Część portalu wewnętrznego to internetowa strona Wydziału, spełniająca rolę nie tylko typowo informacyjną, ale również edukacyjną. Umożliwia ona wprowadzanie i udostępnianie informacji z każdej wydziałowej jednostki. Informacje te podzielono na kategorie: informacja ogólna: O Wydziale, O Katedrze / Kadra / Przedmioty (w tej kategorii umożliwiono zamieszczanie różnego rodzaju materiałów dydaktycznych, które tworzą ciągle rozbudowujący się elektroniczny obszerny podręcznik z weterynarii) / Ogłoszenia / Pracownie (prezentacje pracowni i ich możliwości badawczych i dydaktycznych) / Publikacje (zbiory najnowszych publikacji z dostępem do streszczeń lub pełnego tekstu pracowników poszczególnych katedr) / Badania (prezentacja wszystkich tematów badawczych prowadzonych przez pracowników poszczególnych katedr).

Nowatorskim rozwiązaniem portalu jest zamieszczenie wirtualnego mikroskopu i wirtualnych przestrzennych obiektów sfotografowanych w technice 3D. Wchodząc na stronę WMPW poprzez zamieszczone linki, można uzyskać pełną informację o tym, co dzieje się w zakresie weterynarii na naszej uczelni, w kraju i na świecie.

WMPW to aktualny serwis informacyjny, ale również idealne narzędzie do archiwizowania wszelkich danych o Wydziale, warmińsko-mazurskiej i polskiej weterynarii, gromadzenie materiałów pogłądowych i specjalistycznych. Jest nowoczesnym narzędziem do pisania współczesnej historii weterynarii.





## DZIEWIĘTNASTOWIECZNE RYCINY W ZBIORACH MUZEUM WETERYNARII WIESŁAWY I WALDEMARA KRZYŻEWSKICH W PRZASNYSZU

### XIX CENTURY DRAWINGS IN COLLECTION OF WIESŁAWA AND WALDEMAR KRZYŻEWSKI VETERINARY MUSEUM IN PRZASNYSZ

**Waldemar Krzyżewski**

*Muzeum Weterynarii Wiesławy i Waldemara Krzyżewskich, 06-300 Przasnysz, ul. Gdańska 5,  
e-mail: wkrzyzewski@wp.pl*

W zbiorach Muzeum znajduje się kilkaset rycin przedstawiających zwierzęta. Zostały one wykonane w dziewiętnastym wieku techniką drzeworytniczą. Drzeworyt należy do najstarszych technik graficznych. Był już znany w starożytności. Jego główny rozwój przypada na średniowiecze. Był to tak zwany drzeworyt wzdłużny. Rytownik wykonywał rysunek na prostej desce ciętej wzdłuż słoju drzewa. Technika ta została wyparta przez miedzioryt w XVI w. Technika miedziorytnicza była bardziej precyzyjna i lepiej oddawała światłocień. Drzeworyt przeżył swój renesans w końcu XVIII wieku, kiedy to Anglik Thoms Bewick wynalazł drzeworyt sztorcowy. Według tej metody rysunek był ryty na klockach ciętych w poprzek słoju drzewnych bardzo twardego drzewa bukszpanu lub gruszy. Technika ta była masowo wykorzystywana w XIX stuleciu do druku ilustracji w książkach i gazetach. Zbiór rycin możemy podzielić na kilka grup.

Grupa pierwsza: Ryciny zwierząt drukowane w książkach naukowych z zakresu hodowli zwierząt i weterynarii: np. rycina ukwiałów zawarta w podręczniku zoologii autorstwa J.E.V. Boas, wydanej w Warszawie w 1893 r. ryciny przedstawiające uczucia u zwierząt zawarte w książce: „Wyraz uczuć u człowieka i zwierząt” autorstwa Karola Darwina. Książka ta została wydana w Warszawie w 1873 r. Ryciny leczonych zwierząt zawartych w „Poradniku weterynaryi gospodarczej” napisanego przez Jakuba H. Lewandowskiego. Książka ta została wydana w Warszawie w 1878 r. Ryciny przedstawiające rasy bydła zawarte w „Hodowli bydła rogatego”. Książka ta została napisana przez Wiktora Funka, a wydana w Warszawie w 1900 r. Rycina przedstawiająca sposób kucia buhaja zawarta w opracowaniu Pawła Kretowicza pod tytułem: „Kucie koni”, książka ta została wydana we Lwowie w 1900 r.

Grupa druga: Ryciny zwierząt drukowane w książkach typu encyklopedycznego. W wydawnictwie Meyers Konv-Lexikon możemy obejrzeć formy rozwojowe pszczoł, jaszczurki, krokodyle, żółwie morskie, rajskie ptaki, torbacze, nosorożce, mewy i inne zwierzęta. W wydawnictwie Brockhaus Konversations-Lexikon zobaczymy kraby, orły, wielbłądy, foki, owce i wiele innych zwierząt.

Grupa trzecia: Ryciny zwierząt drukowane w gazetach. Stanowią one zarówno ilustrację do bieżących wydarzeń, jak również reprodukcję obrazów popularnych malarzy, np. reprodukcja obrazu L. Kurelli pt. „Ullica w małym miasteczku na Mazowszu”, gdzie na pierwszym planie widnieje pies; czy też reprodukcja rysunku Franciszka Kostrzewskiego pt. „Dobijanie targu o krówkę”.

Grupa czwarta: Wydania albumowe w tekach reprodukcji dzieł wybitnych malarzy, którzy w swoich obrazach przedstawiali wielokrotnie wizerunki zwierząt, np. reprodukcja obrazu K. Gampenridera: „Ucieczka Hrabiny Kosel”. Przedstawiono tam pędzące w galopie konie. Reprodukcja obrazu E. Stantona pt. „Zimowy rydel”. Przedstawiono na nim owce i pilnującego ich psa. Reprodukcja obrazu O. Prenzela przedstawiająca walkę byków na pastwisku.

#### **Piśmiennictwo:**

- [1] Darwin K., 1873. Wyraz uczuć u człowieka i zwierząt, Warszawa, 52–53, 56.
- [2] Kretowicz P., 1900. Kucie koni, Lwów, 158.
- [3] Lewandowski J., 1878. Poradnik weterynaryi gospodarczej, Warszawa, 685.



## DROGA WOJENNA BOHATERSKICH LEKARZY WETERYNARII – OFICERÓW WP Z POLA WALKI DO OFLAGU VII A MURNAU W LATACH 1939–1945

### THE HEROIC VETERINARIAN – POLISH ARMY OFFICERS – DURING THE II WORLD WAR FROM THE BATTLEFIELD TO OFLAG VII A MURNAU 1939–1945

Henryk Maciołek

*Uniwersytet im. J. Kochanowskiego w Kielcach, filia w Piotrkowie Trybunalskim*

Minęły 72 lata, gdy kraj nasz został napadnięty przez dwie armie. Po bohaterskiej walce stoczonej przez Wojsko Polskie we wrześniu 1939 r. na linii frontu: rzeka Bzura ciągnąca się do granic w kierunku północnym, na linii Łodzi, Łęczycy, Łazieńca, Kutna, Sochaczewa, walczyli lekarze weterynarii armii Poznań, Łódź, Warszawa pod dowództwem gen. Kutrzeby, Bortnowskiego, Roumla, a na wschodzie pod okiem gen. Kleberga i Piskona. Po kilkudniowej, zaciętej walce 28 pułk strzelców Koniowskich i 24 pułk artylerii lekkiej w Łodzi oraz Armii Poznań zostali wzięci do niewoli i zgrupowani. Swoją postawą w odważny sposób udowodnili, że są synami bohaterskiego narodu polskiego. Celem wspomnienia jest ocalić od zapomnienia nie tylko historię naszej zawodowej działalności, ale także bohaterskie dokonania zawodu weterynaryjnego we wszystkich dziedzinach życia, również historię walki o niepodległy byt narodowy i społeczny. Podstawowym materiałem były wspomnienia osób biorących udział w operacjach bojowych, jak również dostępne czasopisma historyczne. Z badań dostępnej literatury wynika, że Niemcy już w 1934 r. lokowali przygotowywane obozy wojskowe, tzw. Oflagi, w Bronnschweig, Dietz, Haulamar, Murnen. Wojska Polskie wzięte do niewoli podczas walki nad rzeką Bzurą, po upadku Warszawy zostały zgrupowane w tymczasowych obozach w Pruszkowie i Skierniewicach. Po około 7-dniowym pobycie, polscy żołnierze zostali przeniesieni do Bronnschweig, Dietz, Haulamar, a następnie do Murnen, umieszczając w Oflagu VII A. Oflag ten wybudowano w latach 1934–1935 na obszarze 77 ha, w głębi terytorium Rzeszy w rejonie Alp w Górnej Bawarii, około 40 km od Dachau oraz 60 km od Monachium. Obóz zasiedlono przez jeńców polskich 06.10.1939 r. Stan obozowy stopniowo uzupełniano do 5000 jeńców, a wśród nich było 68 lekarzy weterynarii – oficerów WP, w tym 11 z tytułem dr n. wet., 5 asystentów z uczelni weterynaryjnych, 3 studentów ostatnich lat studiów, 9 początkujących lekarzy weterynarii. Polska grupa legitymowała się następująco: 1 pułkownik, 2 podpułkowników, 6 majorów, 6 kapitanów, 11 poruczników, 43 podporuczników – lekarzy weterynarii. Funkcje polskiego komendanta obozu pełnił gen. Piskor, a po przeniesieniu do innego obozu stanowisko komendanta objął pułkownik Korycki. Wyzwolenie żołnierzy polskich nastąpiło przez oddział armii amerykańskiej w dniu 29 IV 1945 r. Podsumowując należy wspomnieć, że podczas pobytu w Oflagu VII A w Murnau organizowano zajęcia fakultatywne na poziomie szkoły średniej, uczono się różnych zawodów, w tym także języków obcych (niemieckiego i angielskiego). Wykaz tych, którzy brali udział w boju: płk Tadeusz Kucz, ppłk A. Mejer, St. Konkiej, mjr. St. Gomółka, Wł. Jańczy, Julian Kochanowski, Józef Pokrzycki, St. Stebnicki, Fr. Urbaniak, kpt. J. Bzuchta, T. Elektoranza, T. Kobusiewicz, J. Majewski, J. Telecki. Drugą grupę stanowili niżsi oficerowie: por. E. Dubiel, R. Hajder, J. Prasol, P. Riwoł, H. Szawirski, K. Kozanecki, Hołaj, Ważny, Wrzyczyński, T. Szmilichowski, St. Wędrychowski, ppor. St. Bara, B. Dynowski, A. Eisen. H. Gargula, S. Golonka, J. Grzegorkiewski, R. Herbst, Jurjewski, T. Kamiński, St. Kiljan, F. Kwiatkowski, W. Kołęda, R. Lalka, T. Łyżyński, Z. Mąkarski, E. Małecki, J. Milchert, H. Motyl, T. Nicewski, J. Oleksiński, S. Patyk, J. Perchcze, W. Płoszyński, K. Pyszkowski, T. Świążkowski, B. Świtalski, F. Wisłocki, B. Witkowski, A. Zawadzki, A. Czajkowski, F. Zichiński, A. Mikołajeski, T. Ostrowski, P. Wiktorowski, K. Raksowski, W. Różewski, T. Mozańczuk, A. Netorowski, Adamek, Bratkowski, Wł. Duś, Kuraszkiewicz, J. Rejman.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Różewski W., Wspomnienia z pobytu w Oflagu VII A w Murnau.
- [2] Wiktorowski P., 1954. Lot nad kołyską (wspomnienia obozowe).
- [3] Maciołek H., Lekarze weterynarii – oficerowie Wojska Polskiego w Oflagu VII A w Murnau.



## DZIAŁALNOŚĆ KONSPIRACYJNA SŁUŻBY WETERYNARYJNEJ W OKRESIE OKUPACJI HITLEROWSKIEJ W REJONIE GÓRNEJ RZĘKI WARTY I PILICY W LATACH 1940–1944

### UNDERGROUND ACTIVITIES OF THE VETERINARY SERVICES DURING THE NAZI OCCUPATION IN THE REGION OF THE UPPER RIVER WARTA AND PILICA IN 1940–1944

Henryk Maciołek

*Uniwersytet im. J. Kochanowskiego w Kielcach, filia w Piotrkowie Trybunalskim*

Wojna z Trzecią Rzeszą we wrześniu 1939 r. nie była zaskoczeniem dla społeczeństwa polskiego. Kampania wrześniowa wywołała ogromny szok obywatelski, gdyż na taką sytuację demograficzno-ekspansywną naród polski nie był przygotowany. Napadnięty przez nieprzyjaciół z zachodu i od wschodu, po bohaterskiej, osiemnastodniowej obronie musiał ulec przeważającej sile wrogów. Nastąpił IV rozbiór Polski. W dniach walki obronnej, a potem o odzyskanie niepodległości Ojczyzny walczyli również lekarze, technicy i studenci weterynarii. Naród chciał dalej walczyć o odbudowanie Państwa Polskiego. Obrano dwie drogi: jedni poszli na zachód, aby wstępować do Wojska Polskiego we Francji i Anglii. Pozostali byli oporni wobec gwałtów okupanta na ziemi polskiej – konspiracji. Celem przeprowadzonych badań socjologicznych była analiza działalności konspiracyjnej lekarzy, techników i studentów weterynarii w rejonie Górnej Warty i Pilicy. Na terenie województwa łódzkiego w początkowym okresie okupacji ośrodkami konspiracyjnymi były miasta: Łódź, Piotrków Trybunalski, Tomaszów Mazowiecki. Radomsko oraz częściowo Pabianice. Piotrków Trybunalski już historycznie promieniował patriotyzmem, miał działaczy politycznych i społecznych o bogatej przeszłości; generałowie: Grot-Rowecki, Kalisk – rewizor wewn. sw., Machalica, M. Moczarski AL.

Organizacje podziemne powstawały samorzutnie inspirowane przez przedwojennych działaczy polityczno-społecznych i wojskowych. W październiku 1939 r. przybył do Łodzi ppłk. (późniejszy generał) Leopold Okulicki, który otrzymał nominację na komendanta VI okręgu łódzkiego SZP (Służby Zwycięstwa Polski) ZWZ – AK. W zebraniu wzięło udział czterech oficerów z 28 pułku Strzelców Kaniowskich z porucznikiem Antonim Węgrzynem oraz 2 oficerów rezerwy. Spotkaniu przewodniczył ppłk. L. Okulicki. Celem działalności organizacyjnej było nawiązanie kontaktów z byłymi oficerami i podoficerami oraz wyznaczenie dowódców danego terenu. Zadaniem było zbieranie informacji na temat: transportu kolejowego i drogowego, sporządzanie wykazu osób podejrzanych i współpracujących z okupantem, lokalizacja oddziałów niemieckich i magazynów wojskowych, planowanie akcji sabotażowych w zakresie lokomotyw, opóźniania prac, dostarczania niewłaściwych materiałów lub części przy remontach sprzętu transportowego, młynów, fabryk. Trzon organizacji ZWZ – AK stanowili oficerowie służby czynnej, a na stanowiskach komendantów okręgów z reguły byli wyżsi oficerowie sztabowi. Spośród lekarzy weterynarii byli włączeni: Briks St. – porucznik, komendant rejonowy AK, Lipiński St. por. rez., Latała Z. ppor., Latała W.M. ppor., Klawe T.R. por. rez. por. lek. wet., Madejczyk J. por. rez. por. lek. wet., Majewski St. rejonowy lek. wet. major rezerwy, Michalska A., Matyjaszewski Henryk, Miszczyk Fryderyk, Przedpełski Andrzej ppor. rez., OW Prokopowicz T. por. rez., Próchnicki T. ps. Korczak – ppor., rzeźnia Bełchatów, Próchnicki T. (syn Tadeusza) major – Gorkowice, Skorupski T. por. rez. rej. lek. wet., OW Spienek S., Pakuła M. ppor., Ostrowski W. por. rez., Kowalczyk T. por. Spośród techników weterynarii: Łukasik B., Szmulik S.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Maciołek H., 2012. Archiwum własne.
- [2] Olesik A., 1991. Wspomnienia komendanta obwodu Piotrkowskiego AK.
- [3] Nazarewicz A., 1980. Nad górną Wartą i Pilicą.
- [4] Tropiło J., 1993. Losy i walka polskich lekarzy weterynarii podczas II Wojny Światowej. Materiały sympozjum, Ciechanów.



## ANATOMIA ZWIERZĄT W NAUCE I W PRAKTYCE

### THE ANIMALS ANATOMY IN THEORY AND IN PRACTICE

Renata Nowaczyk

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, Zakład Anatomii Zwierząt, ul. Kozuchowska 1/3, 51-631 Wrocław, e-mail: renata.nowaczyk@up.wroc.pl

Studia nad anatomią człowieka i zwierząt prowadzono już w starożytnym Egipcie, Chinach oraz Indiach. Bezpośrednie badania dotyczące anatomii człowieka, ze względu na liczne przesady i zakazy, wykonywano rzadko. Zgoda i poparcie Ptolemeusza I umożliwiły Herofilosowi z Chalkedonu (ok. 340–300 r. p.n.e.) wykonanie licznych sekcji zwłok ludzkich. Ponieważ badania człowieka były najczęściej zakazane, to zwierzęta stanowiły źródło poznawania anatomii, a teorie dotyczące budowy ludzkiego ciała tworzone na podstawie wyników badań zwierząt. Początków takiej anatomii można dopatrywać się w badaniach Hipokratesa, który w celu uzyskania podstaw do diagnozowania chorób ludzkich badał anatomie zwierząt. Poznając budowę innych ssaków, tworzył prawdopodobny obraz organów człowieka. Wiedza Hipokratesa na temat anatomii opierała się w głównej mierze na dawniejszych autorach: Emepedoklesie z Agrygentu, Alkemonie z Krotonu, Diogenesie z Apolonii. Wiadomo, że poza zewnętrznymi oględzinami zwłok ludzkich w czasach Hipokratesa głównie dokonywano badań na zwierzętach. Istotne poglądy dotyczące anatomii i fizjologii zwierząt umieścił też w swoich pracach: *De amina*, *Parva naturalia*, *De partibus animalium*, *De generatione animalium*, *Historia Animalium* Arystoteles (384–322 r. p.n.e.). Jednak człowiekiem, którego poglądy miały przez kilkanaście wieków wywierać ogromny wpływ na anatomie, był Galen, który wśród licznych pism pozostawił: *De anatomicis administrationibus*, *De venarum arteriarumque dissectione Liber*, *De nervorum dissectione*, *De musculorum dissectione*. Również Galen nie prowadził sekcji ludzkich, a badania wykonywał głównie na małpach.

Zainteresowanie naukami medycznymi w chrześcijańskiej Europie było nieporównanie mniejsze niż w starożytności. Wiedza anatomiczna opierała się głównie na pracach Rhasesa i Haly Abbasa, a zwłaszcza na Kanonie Avicenny. Największe zasługi dla średniowiecznej anatomii miał Mondino da Luzzi – Mondinus (1275–1326), autor wielkiego dzieła *Anathomia* opartego na sekcjach anatomicznych. Sekcje wykonywane za czasów Mondinusa wymagały uzyskania zezwolenia papieskiego lub królewskiego. W roku 1299 Bonifacy VIII zabronił dokonywania sekcji zwłok jako czynności bezbożnej. Z czasem zmieniało się podejście do badań dotyczących ludzkiego ciała. Narastające zainteresowanie anatomie nasiliło się na przełomie XV–XVI w. Na ten okres przypadają interesujące badania anatomiczne Leonarda da Vinci (1452–1519). W roku 1543 Andreas Vesalius opublikował dzieło, które wytyczyło granicę między średniowieczną a nowożytną anatomie: *De humani corporis fabrica libri septem*.

Przez wiele wieków anatomie zmieniała się powoli, by ulec ogromnemu postępowi na przełomie XIX i XX w., kiedy zostały rozwinięte metody badań, począwszy od badań dotyczących zwierząt poprzez zaawansowaną sekcję ciała ludzkiego, aż do złożonych technik badawczych rozwijających się na przełomie XX i XXI w. Chociaż w ciągu wieków zmienił się bardzo poziom poznania anatomii, nie uległy zmianom podstawowe metody nauki anatomii, opierające się na preparowaniu zwłok. Anatomie jest fundamentem w edukacji lekarzy. Ma ona kluczowe znaczenie w zrozumieniu innych bardzo ważnych przedmiotów studiów, a przede wszystkim jest niezwykle ważna w dobrym wykonywaniu zawodu lekarza. Myśląc o anatomie praktycznej, zwracamy się w kierunku anatomii topograficznej, która jest niezbędna zarówno klinicytom, jak i chirurgom, patologom oraz innym specjalistom. Obszar dotyczący anatomii ma wyjątkową historię, a sama anatomie jest uważana za jedną z najważniejszych nauk.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dunlop R.H., Williams D.J., 1996. *Veterinary Medicine, An Illustrated History*, Mosby.
- [2] *Kronika Medycyny*, Wydawnictwo Kronika, 1994.
- [3] Brzeziński T., 2004. *Historia medycyny*, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.





## PROF. DR HAB. BOHDAN RUTKOWIAK – NAUKOWIEC I ARTYSTA

## PROF. BOHDAN RUTKOWIAK, PH.D. – SCIENTIST AND ARTIST

Jan Tropiło

Muzeum Weterynarii w Ciechanowcu, e-mail: [jatrop@op.pl](mailto:jatrop@op.pl)

Prof. Bohdan Rutkowiak urodził się 29 marca 1933 r. w Gogolewie w Wielkopolsce. Rodzice byli nauczycielami i wpoili mu zasady rozróżniania dobra od zła, wyczulili również na piękno otaczającego nas świata. Szkołę średnią w Poznaniu i Leningradzki Instytut Weterynaryjny ukończył z wyróżnieniem. Od 1 września 1956 r. rozpoczął pracę w PZLZ w Gdańsku, Lecznica ta w latach 50. i 60. była jedną z najaktywniejszych w Polsce. Do zabiegów rutynowych należały rumenotomia, cięcie cesarskie u krów, operacje brzuszne i ortopedyczne u różnych gatunków zwierząt. Profesor w tym czasie współpracował z Akademią Medyczną w Gdańsku w zakresie nowych technik operacyjnych. Następnie przechodził przez różne etapy pracy zawodowej do kierownika Oddziału Weterynaryjnej Ochrony Produkcji Zwierzęcej ZHW. W okresie rozkwitu Oddziału wyniki kompleksowych badań dotyczyły 380 stad bydła. Wykonywano tysiące badań hematologicznych, biochemicznych krwi, pasz oraz kompleksowych badań wskaźników zoohigienicznych. W badaniach tych owocnie wspierała go żona Krystyna. W 1993 r. otworzył prywatny gabinet weterynaryjny. Pracę kontynuował do 2010 r., był więc czynny zawodowo przez 54 lata. Pracę naukową prof. B. Rutkowiak rozpoczął w 1959 r. Łącznie ogłosił drukiem przeszło 160 prac. Opierając się na własnych badaniach napisał podręcznik pt. „Zaburzenia trawienne i metaboliczne w stadach krów mlecznych” [PWRiL, Warszawa 1987]. Jest również współautorem z Czesławem Kurkiem książki pt. „Schorzenia wymienia krów” [PWRiL, Warszawa 1977]. W 1965 uzyskał stopień doktora, w 1973 dr. hab., a tytuł naukowy profesora w 1988 r. Jest promotorem trzech prac doktorskich i recenzentem trzech rozpraw habilitacyjnych i dwóch wniosków o nadanie tytułu profesora. Jest wybitnym klinicystą, chirurgiem o wyjątkowej sprawności manualnej. Umie jak rzadko kto pochylić się nad chorym zwierzęciem i jego zasmuconym właścicielem. Obdarzony jest wrażliwością na odmienność innego człowieka. Stąd jego działalność charytatywna i współpraca z młodzieżą z upośledzeniami umysłowymi. Posiada wszechstronny talent plastyczny ujawniający się w rzeźbiarstwie, malarstwie, tkactwie, rysunku satyrycznym i tworzeniu ekslibrisów. Jego udział w Międzynarodowym Biennale Ekslibrisu Współczesnego w Malborku świadczy o nobilitacji w środowisku twórców tych pięknych znaków książkowych. Profesor początkowo stosował technikę linorytniczą, w ostatnich latach stworzył własny sposób wykonywania ekslibrisów barwnych. Łącznie wykonał ich przeszło 450. Jego ekslibrisy wystawiane były na wielu wystawach indywidualnych i zespołowych w kraju i za granicą, są obiektem poszukiwanym i gromadzonym przez kolekcjonerów. Wykonuje je od 1964 r. przede wszystkim dla lekarzy weterynarii i obdarowuje ich tymi miniaturowymi dziełami sztuki, zapisując nimi historię polskiej weterynarii. Profesor jest również projektodawcą i organizatorem pierwszego na świecie międzynarodowego konkursu na ekslibris weterynaryjny pt. „*Sanitas animalium pro salute homini*”, który odbył się z okazji 50-lecia Wojewódzkiego Zakładu Weterynarii w Gdańsku. Na konkurs wpłynęło 376 prac od 184 twórców z 33 krajów, komisarzem pokonkursowej wystawy był prof. Bohdan Rutkowiak [2, 3]. W swojej szerokiej działalności społecznej zaprojektował sztandary: jeden dla Krajowej Izby Lekarsko-Wet. i drugi dla Kaszubsko Pomorskiej Izby Lekarsko-Wet. Profesor Bohdan Rutkowiak swoją działalnością naukową, zawodową, społeczną i artystyczną zapisuje się jako jeden z najwybitniejszych lekarzy weterynarii mojego pokolenia.

### Piśmiennictwo:

- [1] Rutkowiak B., 50 lat pracy w zawodzie lekarza weterynarii, Jubileuszowa sesja i wystawa ekslibrisów. Wyd. Gdańskie Towarzystwo Przyjaciół Sztuki, Gdańsk, wrzesień 2006.
- [2] Międzynarodowe sympozjum naukowe pt. „Nauki weterynaryjne oraz zawód lekarza weterynarii w ekslibrisie”, Komitet Nauk Wet. PAN, Wojew. Zakł. Wet. w Gdańsku, Gdańsk, 5 IX 1996.
- [3] Katalog wystawy pokonkursowej pt. *Sanitas animalium pro salute homini*. Wyd. Wojew. Zakł. Wet. w Gdańsku. Gdańsk, wrzesień 1996.





**SEKCJA  
NAUK PODSTAWOWYCH  
I PRZEDKLINICZNYCH**





## WYKRYWANIE MARKERÓW CHOROBOTWÓRCZOŚCI U SZCZEPÓW *YERSINIA ENTEROCOLITICA* IZOLOWANYCH OD BAŻANTÓW (*PHASIANUS COLCHICUS*) I DZIKICH KACZEK (*ANAS PLATYRHYNCHOS*)

### DETECTION OF VIRULENCE MARKERS IN *YERSINIA ENTEROCOLITICA* STRAINS ISOLATED FROM PHEASANTS (*PHASIANUS COLCHICUS*) AND MALLARDS (*ANAS PLATYRHYNCHOS*)

Agata Banczerz-Kisiel<sup>1</sup>, Anna Szczerba-Turek<sup>1</sup>, Aleksandra Platt-Samoraj<sup>1</sup>, Karolina Lipczyńska<sup>1</sup>,  
Tomasz Stenzel<sup>2</sup>, Wojciech Szweda<sup>1</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii,  
<sup>2</sup>Katedra Chorób Ptaków, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: a.banczerz-kisiel@uwm.edu.pl

*Yersinia (Y.) enterocolitica* jest czynnikiem etiologicznym jersiniozy – choroby występującej u różnych gatunków zwierząt oraz u człowieka. Powszechnie uważa się, że głównym źródłem zakażenia dla ludzi jest żywność zanieczyszczona pałeczkami *Y. enterocolitica*, a największe znaczenie w rozprzestrzenianiu zakażeń przypisuje się trzodzie chlewnej. Bardzo mało jest natomiast doniesień dotyczących występowania *Y. enterocolitica* u zwierząt i ptaków wolno żyjących.

Z tego względu w badaniach własnych zdecydowano się na poszukiwanie w wymazach z kloaki kaczek krzyżówek i bażantów potencjalnie chorobotwórczych szczepów *Y. enterocolitica* celem dokonania ich bliższej charakterystyki i wykazania obecności markerów zjadliwości występujących u szczepów patogennych dla człowieka.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 90 wymazów z kloaki, pochodzących od 45 kaczek krzyżówek oraz 32 wymazy z kloaki pochodzące od 16 bażantów. Od każdego ptaka pobierano po 2 wymazy, ze względu na psychrofilne właściwości *Y. enterocolitica* i konieczność prowadzenia dwóch rodzajów hodowli. Dalszy tok postępowania był identyczny dla obu próbek. Badania biotypujące wykonano zgodnie z obowiązującą w Polsce normą, badania serotypujące natomiast przeprowadzono testem aglutynacji szkiełkowej z zastosowaniem komercyjnych surowic diagnostycznych (ITEST, Czechy). Genomowe DNA izolowano przy użyciu kitu „Genomic Mini” (A&A Biotechnology, Gdynia, Poland), a reakcję triplex PCR przeprowadzono z zastosowaniem polimerazy HotStarTaq Plus DNA (Qiagen) and HotStarTaq Plus Master Mix Kit (Qiagen). Skład mieszaniny reakcyjnej oraz profil temperaturowo-czasowy opublikowano w innej pracy [1].

**Wyniki i omówienie:** Szczepy *Y. enterocolitica* wyizolowano od 5 z 45 kaczek (11,11%), wszystkie pochodziły z hodowli zimnej (PSB) i należały do biotypu 1A. Badania serotypujące wykazały, że 3 spośród nich należały do serotypu O:8, jeden do serotypu O:5, a jeden nie aglutynował z żadną z zastosowanych surowic diagnostycznych i uznany został za nietypujący się. W badaniach molekularnych u wszystkich 5 szczepów *Y. enterocolitica* wykazano amplikony genu *ystB*, na podstawie obecności prążka wielkości 180 bp. U żadnego z badanych 16 bażantów nie stwierdzono obecności pałeczek *Y. enterocolitica*. Badania wykazały, że kaczka krzyżówka może być nosicielem, siewcą i potencjalnym źródłem zakażenia pałeczkami *Y. enterocolitica*. Wyizolowane szczepy należały w większości do rzadko spotykanego na świecie bioserotypu 1A/O:8 i charakteryzowały się obecnością amplikonów genu *ystB*, co może stanowić zagrożenie dla zdrowia publicznego [2, 3].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Banczerz-Kisiel A., Szczerba-Turek A., Platt-Samoraj A., Socha P., Szweda W., 2009. Application of multiplex PCR for the evaluation of the occurrence of *ail*, *ystA*, and *ystB* genes in *Yersinia enterocolitica* strains isolated from wild boars (*Sus scrofa*). Bull. Vet. Inst. Pulawy, 53, 351–355.
- [2] McNally A., Cheasty T., Fearnley C., Dalziel R.W., Paiba G., Manning G., Newell D.G., 2004. Comparison of the biotypes of *Yersinia enterocolitica* isolated from pigs, cattle and sheep at slaughter and from humans with yersiniosis in Great Britain during 1999–2000. Lett. Appl. Microbiol. 39: 103–108.
- [3] Wang, X., Qiu H., Jin D., Cui Z., Kan B., Xiao Y., Xu Y., Xia S., Wang H., Yang J., Wang X., Hu W., Xu J., Jing H., 2008. O:8 serotype *Yersinia enterocolitica* strains in China. Int. J. Food Microbiol., 125, 259–266.



## ZASTOSOWANIE MULTIPLEX PCR DO OCENY WYSTĘPOWANIA MARKERÓW CHORO- BOTWÓRCZOŚCI U SZCZEPÓW *YERSINIA ENTEROCOLITICA* IZOLOWANYCH OD LUDZI

### APPLICATION OF MULTIPLEX PCR TO EVALUATE THE OCCURRENCE OF VIRULENCE MARKERS IN *YERSINIA ENTEROCOLITICA* STRAINS ISOLATED FROM HUMANS

Agata Banczerz-Kisiel<sup>1</sup>, Anna Szczerba-Turek<sup>1</sup>, Aleksandra Platt-Samoraj<sup>1</sup>, Karolina Lipczyńska<sup>1</sup>,  
Eugenia Gospodarek<sup>2</sup>, Janusz Dzisko<sup>3</sup>, Wojciech Szweda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: a.banczerz-kisiel@uwm.edu.pl

<sup>2</sup>Collegium Medicum UMK, Wydział Farmaceutyczny, Katedra i Zakład Mikrobiologii,  
ul. M. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz

<sup>3</sup>Warmińsko-Mazurski Państwowy Wojewódzki Inspektor Sanitarny, WSS-E, ul. Żołnierska 16, 10-051 Olsztyn

*Yersinia (Y.) enterocolitica* jako czynnik etiologiczny biegunek u ludzi zajmuje trzecie miejsce, po *Campylobacter spp.* i *Salmonella spp.*, pod względem liczby potwierdzonych przypadków klinicznych [2]. Zróznicowanie symptomatyczne choroby czyni ją niezwykle trudną do rozpoznania po obrazie klinicznym, zatem diagnostyczne badania laboratoryjne wydają się być niezbędne do właściwego rozpoznania. Badania bakteriologiczne służące izolacji szczepów *Y. enterocolitica* oraz badania określające biotyp i serotyp zgromadzonych izolatów są istotne do prowadzenia dalszego postępowania diagnostycznego, ale jednocześnie pracochłonne i czasochłonne.

Uwzględniając powyższe aspekty, zdecydowano się na zastosowanie szybkiej metody multiplex PCR do poszukiwania fragmentów genów *ystA*, *ystB*, *ystC* i *ymoA*, uznawanych za markery chorobotwórczości szczepów *Y. enterocolitica*.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 101 szczepów *Y. enterocolitica*, pochodzących z klinicznych przypadków jersiniozy u ludzi, pozyskanych z Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie, Katedry i Zakładu Mikrobiologii UMK w Bydgoszczy oraz Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Olsztynie. Badania biotypujące wykonano zgodnie z obowiązującą w Polsce normą, badania serotypujące natomiast przeprowadzono testem aglutynacji szkiełkowej z zastosowaniem komercyjnych surowic diagnostycznych (ITEST, Czechy). Genomowe DNA izolowano przy użyciu kitu „Genomic Mini” (A&A Biotechnology, Gdynia, Poland), a reakcję triplex PCR przeprowadzono z zastosowaniem polimerazy HotStarTaq Plus DNA (Qiagen) and HotStarTaq Plus Master Mix Kit (Qiagen). Skład mieszaniny reakcyjnej oraz profil temperaturowo-czasowy opublikowano w innej pracy [1].

**Wyniki i omówienie:** Szczepy *Y. enterocolitica* wyizolowane od ludzi należały w zdecydowanej większości do biotypu 4, serotypu O:3 (82,18%). Niewielki odsetek (3,96%) stanowiły szczepy biotypu 2, serotypu O:9, natomiast wyizolowano 14 (13,86%) szczepów biotypu 1B, serotypu O:8, uważanego za najbardziej patogenny dla ludzi. W badaniach molekularnych u wszystkich 101 szczepów *Y. enterocolitica* wykazano amplikony genu *ystA*, na podstawie obecności prążka wielkości 134 pz oraz fragmenty genu *ymoA*, na podstawie prążka wielkości 330 pz. Badania wykazały, że wszystkie wyizolowane z przypadków klinicznych jersiniozy u ludzi szczepy *Y. enterocolitica* mają klasyczne markery chorobotwórczości w postaci genów *ystA* i *ymoA*, a zastosowanie multiplex PCR do wykrywania fragmentów kilku genów w jednej reakcji znacząco skraca czas oczekiwania na wynik badania próbki pobranej od człowieka.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Banczerz-Kisiel A., Szczerba-Turek A., Platt-Samoraj A., Szweda W., 2011. Application of multiplex PCR for the evaluation of the occurrence of *ystA*, *ystB*, *ystC* and *ymoA* genes in *Yersinia enterocolitica* strains from fattening pigs. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 55, 33–37.
- [2] European Food Safety Authority., 2012. European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. EFSA Journal, 10 (3), 2597. Available online: [www.efsa.europa.eu/efsajournal](http://www.efsa.europa.eu/efsajournal)





## AKTYWNOŚĆ MIOELEKTRYCZNA WARSTWY MIĘŚNIOWEJ ZDROWEJ I ZMIENIONEJ AORTY BRZUSZNEJ U ŚWIŃ W WARUNKACH *IN VIVO*

### MYOELECTRIC ACTIVITY OF THE HEALTHY AND PATHOLOGICALLY CHANGED ABDOMINAL AORTA IN PIGS *IN VIVO*

Albert Czerski<sup>1,2</sup>, Agnieszka Rusiecka<sup>1,2</sup>, Jolanta Bujok<sup>1,2</sup>, Jan Gnus<sup>2</sup>, Willy Hauser<sup>2</sup>,  
Wojciech Zawadzki<sup>1,2</sup>, Wojciech Witkiewicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Fizjologii Zwierząt, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: jolanta.bujok@up.wroc.pl

<sup>2</sup>WroVasc Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo-Naczyniowej, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu

Ściana tętnic zawiera warstwę mięśni gładkich, które kontrolują światło naczyń na drodze nerwowej oraz hormonalnej. Poznanie właściwości mioelektrycznych mięśniówki gładkiej aorty pozwoli na ocenę jej roli w powstawaniu i rozwoju nadciśnienia oraz zmian w strukturze naczyń.

**Cel badań:** Poznanie wzoru aktywności mioelektrycznej mięśniówki gładkiej aorty brzusznej u świń zdrowych oraz z tętniakiem aorty brzusznej.

**Materiały i metody:** Badania przeprowadzono na 13 świniami o masie ciała 20–30 kg. Zwierzęta zostały podzielone na dwie grupy: kontrolną (n=5) i z wywołanym tętniakiem aorty brzusznej (n=8). Wszystkim zwierzętom w warstwę mięśniową aorty brzusznej wszczepiono bipolarne elektrody, które połączono z implantem firmy DSI (Data Science International USA). Sygnał z implantu przekazywano do urządzenia rejestrującego dane drogą telemetrii.

**Wyniki i omówienie:** W obu grupach wykazano aktywność mioelektryczną charakteryzującą się pojawieniem zmian potencjału błonowego. Zmiany potencjału można było podzielić ze względu na amplitudę, czas trwania i częstotliwość na fale I-, II- i III-rzędowe. Fale I rzędu pojawiały się ze średnią częstotliwością 128±14 min. Amplituda fali wynosiła średnio 0,150 ± 0,03 mV, a średni czas trwania 0,43±0,05 sek. Były ściśle skorelowane z zapisem EKG i zmianami ciśnienia krwi. Fale II-rzędowe pojawiały się z średnią częstotliwością 15,9±4,4/ min. Charakteryzowały się średnim czasem trwania 2,69 ± 1,5 sek. i średnią amplitudą wyładowania rzędu 0,205 ± 0,157 mV. Były skorelowane z akcją oddechową zwierzęcia. Fale III rzędu pojawiały się ze średnią częstotliwością 4,03±1,07/min. Charakteryzowały się średnim czasem trwania 11,81±5,3 sek. Średnia amplituda wyładowania wynosiła 0,345±0,232 mV. Związane były z regulacją autonomiczną światła naczyń krwionośnego.

Rejestrowane aktywności mioelektryczne aorty prawidłowej i zmienionej tętniakowato były identyczne. W obu grupach wykazano wszystkie rodzaje fal, a częstotliwość i amplitudy fal nie różniły się istotnie. Jako że jednym z czynników predysponujących do rozwoju zmian tętniakowatych jest nadciśnienie tętnicze krwi, wartości te mogą różnić się w warunkach podwyższonego ciśnienia krwi.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Alcorn H.G., Wolfson S.K. Jr, Sutton-Tyrrell K., Kuller L.H., O'Leary D., 1996. Risk factors for abdominal aortic aneurysms in older adults enrolled in The Cardiovascular Health Study, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 16, 963–970.
- [2] Grassi G., Cattaneo B.M., Seravalle G., Landfranchi A., Mancina G., 1998. Baroreflex control of sympathetic nerve activity in essential and secondary hypertension, *Hypertension*, 31, 68–72.
- [3] Zawadzki W., Zięba D., Dejneka J., 2001. *Fizjologia zwierząt*, Wrocław.



## CZY ZAKAŻENIA GRZYBICZE MOGĄ POWODOWAĆ ZMIANY „HOT SPOTS” U PSÓW Z ATOPIĄ?

### IS FUNGAL INFECTION THE CAUSE OF "HOT SPOTS" IN ATOPIC DOGS?

**Bożena Dworecka-Kaszak**

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Mykologii  
Katedry Nauk Przedklinicznych, Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, e-mail: bozena\_kaszak@sggw.pl

Atopia oznacza w szerszym ujęciu nieprawidłową odpowiedź immunologiczną na antygen, w wyniku której dochodzi do nadmiernego wytwarzania przeciwciał IgE. Genetyczne uwarunkowania atopii są złożone, a jej ujawnienie zależne od ekspresji wielu genów. Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest przewlekłą chorobą skóry będącą rezultatem interakcji pomiędzy czynnikami środowiskowymi, ekspresją genów gospodarza, zaburzeniem w działaniu barier ochronnych skóry lub zaburzonego funkcjonowania całego układu immunologicznego. Zmiany „hot spots” (gorąca rana) są częstym i bardzo uciążliwym problemem u wielu psów, prawdopodobnie cierpiących na atopię. „Hot spots” pojawiają się w ciągu kilku godzin i obejmują nieraz bardzo rozległe obszary skóry. Ponieważ towarzyszy im silny świąd, często dochodzi do samouszkodzeń okrywy włosowej psów poprzez intensywne rozlizywanie chorych miejsc. Pojawia się obfity wysięk surowiczy, a następnie ropny. W miejscach zmienionych obserwuje się całkowitą utratę włosa lub daje się on łatwo usunąć przez delikatne pociągnięcie. Skóra jest rozpułchniona; występują intensywny rumień i bolesność. Zazwyczaj zmiany „hot spots” opisywane są u psów rasy golden retriever, labrador, chow-chow itp. „Hot spots” wydają się być inicjowane przez jakiegokolwiek czynniki drażniące skórę, ale najczęściej towarzyszą uczuleniu na ugryzienia pcheł, innym rodzajom alergii, np. pokarmowej lub na alergeny wziewne, inwazjom ektopasożytami lub błędom pielęgnacyjnym. Ciężkie niedobory kwasów tłuszczowych i mikroelementów są wymieniane jako czynniki sprzyjające, podobnie jak psychogenne podłoże przeczulicy skóry. W posiewach materiału pobranego ze zmian stwierdza się obecność wielu różnych mikroorganizmów, ale dominują zwykle *Staphylococcus pseudintermedius* i *Malassezia pachydermatis*.

**Cel pracy:** Wykazanie, że miejscowe, niezwłoczne zastosowanie środków przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych ograniczających znacznie populację gronkowców i drożdżaków jest wystarczające do osiągnięcia skutecznego i pełnego wyleczenia ostrych zmian skórnych „hot spots” u psów atopowych bez konieczności stosowania leków steroidowych.

**Materiał i metody:** W badaniu wzięło udział 7 psów rasy chow-chow i 2 labrador retriever z prawdopodobną atopią, w różnym wieku i różnej płci, cierpiących na sezonowo (wiosna - jesień) pojawiające się zmiany skórne typu „hot spots”. U części psów zdiagnozowano wcześniej alergię na ugryzienia pcheł, u innych nie rozpoznano jeszcze czynnika uczulającego. Od wszystkich psów pobierano wymazy ze skóry w momencie wystąpienia ostrej fazy „hot spots” lub kilka godzin później, ale przed podjęciem leczenia. Próbkę poddano rutynowym badaniom mikrobiologicznym; mikroskopowym i hodowlanym. Chore psy były leczone miejscowo za pomocą roztworu chlorhexydyny i betadyny w stężeniach zalecanych przez producenta. Psy u których wystąpiły liczne lub rozległe zmiany skórne, były najpierw kąpane w tym samym roztworze uzupełnionym szamponem zawierającym pochodne imidazoli. Leczenie miejscowe kontynuowano przez 2–3 dni, przemywając rany 2–3 razy dziennie. Po tym okresie psy zwykle zupełnie przestawały się ranami interesować.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach i obserwacjach własnych odnotowano zdecydowane zwiększenie liczebności populacji gronkowców i drożdżaków kolonizujących skórę cierpiących zwierząt. Zauważono, że empiryczne, niezwłoczne podjęcie intensywnego, miejscowego leczenia przeciwbakteryjnego i przeciwgrzybicznego skutecznie hamuje proces zapalny, rozprzestrzenianie się zmian oraz natychmiastowo redukuje świąd bez konieczności podawania leków steroidowych i przeciwhistaminowych. W pracy rozważony zostanie mechanizm inicjowania „hot spots” przez grzyby z rodzaju *Malassezia* i możliwości zapobiegania takim zmianom.



## WARTOŚCI MIC WYBRANYCH ANTYBIOTYKÓW DLA METICYLINOOPORNYCH SZCZEPÓW *STAPHYLOCOCCUS PSEUDINTERMEDIUS*

### MIC VALUES OF SELECTED ANTIBIOTICS FOR METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS PSEUDINTERMEDIUS* STRAINS

Magdalena Kizerwetter-Świda, Dorota Chrobak, Magdalena Rzewuska, Marian Binek

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Przedklinicznych, Zakład Bakteriologii i Biologii Molekularnej, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, e-mail: magdakiz@wp.pl

Istotnym problemem związanym ze zwalczaniem zakażeń wywoływanych przez *Staphylococcus pseudintermedius* jest ich narastająca oporność na antybiotyki, szczególnie na  $\beta$ -laktamy. Meticyliooporne szczepy *S. pseudintermedius* odporne na  $\beta$ -laktamy (methicillin-resistant *S. pseudintermedius* – MRSP) są często wielolekooporne, co powoduje wyłączenie z terapii wiele grup antybiotyków. W rezultacie leczenie zakażeń o etiologii MRSP jest trudne, ponieważ wybór skutecznych antybiotyków jest bardzo ograniczony. Co więcej, niektóre z tych antybiotyków nie są zarejestrowane do stosowania u zwierząt. W ostatnich latach notowany jest wzrost częstości występowania zakażeń o etiologii MRSP. Najczęściej występują one u psów i dotyczą zewnętrznego przewodu słuchowego, skóry lub są to zakażenia szpitalne ran pooperacyjnych.

**Cel badań:** Określenie wartości MIC dla wybranych antybiotyków u szczepów MRSP wyizolowanych od psów.

**Materiał i metody:** Do badań użyto 16 szczepów MRSP wyizolowanych od psów w Laboratorium Diagnostycznym Zakładu Bakteriologii i Biologii Molekularnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie. Oporność na metycylinę określano za pomocą metody krążkowo-dyfuzyjnej z cefoksytiną zgodnie z zaleceniami CLSI oraz potwierdzono wykrywając obecność genu *mecA* za pomocą techniki PCR. Wartości MIC dla następujących antybiotyków: enrofloksacyny, ciprofloksacyny, chloramfenikolu, mupirocyny, linezolidu, klindamycyny, kanamycyny, amikacyny, doksycykliny, wankomycyny, rifampicyny oraz gentamycyny określano E-testami (BioMerieux) zgodnie z zaleceniami CLSI.

**Wyniki i omówienie:** Wśród 16 badanych szczepów MRSP stwierdzono wysoką oporność na 6 spośród 12 badanych antybiotyków (kanamycyna 100%; MIC<sub>90</sub> >256  $\mu$ g/ml, enrofloksacyna 93%; MIC<sub>90</sub> >32  $\mu$ g/ml, ciprofloksacyna 93%; MIC<sub>90</sub> >32  $\mu$ g/ml, klindamycyna 93%; MIC<sub>90</sub> >256  $\mu$ g/ml, gentamycyna 93%; MIC<sub>90</sub> 192  $\mu$ g/ml oraz doksycyklina 81%; MIC<sub>90</sub> 12  $\mu$ g/ml). Wszystkie badane szczepy wykazały wrażliwość na mupirocynę, linezolid, amikacynę oraz wankomycynę. Oporność na chloramfenikol stwierdzono u 1 szczepu (7%), natomiast na rifampicynę u dwóch szczepów (12%). Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na oporność szczepów MRSP na 6 spośród 12 antybiotyków. Należy jednak zaznaczyć, że 4 spośród nich: mupirocyna, linezolid, wankomycyna oraz rifampicyna są stosowane w medycynie do zwalczania ciężkich zakażeń u ludzi. A zatem, stosowanie tych leków w medycynie weterynaryjnej jest kontrowersyjne, z uwagi na możliwość powiększenia się populacji szczepów opornych, w tym zwierzęcych MRSP. Pozostałe aktywne antybiotyki, tj. chloramfenikol czy amikacyna nie są łatwo dostępne w lecznictwie, a ich stosowanie może powodować u pacjentów poważne skutki uboczne. Przedstawione wyniki potwierdzają wielolekooporność szczepów MRSP występujących u zwierząt towarzyszących człowiekowi, jakimi są psy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Wayne P.A., 2008. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard-Third Edition. CLSI document M31-A3.



## MOLEKULARNE RÓŻNICOWANIE PODSZCZEPÓW PRĄTKA BYDLĘCEGO: *MYCOBACTERIUM BOVIS* SUBSP. *BOVIS* I *MYCOBACTERIUM BOVIS* SUBSP. *CAPRAE* WYODRĘBNIONYCH OD ZWIERZĄT W POLSCE

### MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *MYCOBACTERIUM BOVIS*: *MYCOBACTERIUM BOVIS* SUBSP. *BOVIS* AND *MYCOBACTERIUM BOVIS* SUBSP. *CAPRAE* ISOLATED FROM ANIMALS IN POLAND

Monika Krajewska, Marek Lipiec

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: monika.krajewska@piwet.pulawy.pl

Prątek bydlęcy, *Mycobacterium bovis*, odznacza się najbardziej uniwersalną patogennością wśród prątków zgrupowanych w obrębie kompleksu *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tbc.* complex). Kompleks *tuberculosis* stanowi niejednorodną grupę prątków różniących się od siebie pod względem morfologicznym, biochemicznym, cech lekooporności, zjadliwości i różnym powinowactwem do rodzaju gospodarza. Szczepy poddane analizie pochodziły od bydła oraz dzikich zwierząt, wyizolowanych w latach 2008–2009 w Polsce. Prezentowana praca po raz pierwszy w Polsce opisuje dokładną identyfikację szczepów prątków gruźlicy bydlęcej należących do gatunku *Mycobacterium bovis* na dwa podgatunki *bovis* i *caprae* przy zastosowaniu nowoczesnych technik molekularnych.

**Materiały i metody:** Materiał do badań bakteriologicznych stanowiły tkanki zwierząt, pochodzące od 58 sztuk bydła, 2 tapirów anta (*Tapirus terrestris*) oraz od żubra (*Bison bonasus caucasicus*). Próbkę przysłane do badań pochodziły z 8 województw. Prątki zostały wyizolowane głównie z węzłów chłonnych, a także z płuc i opłucnej, wątroby, śledziony oraz otrzewnej trzewnej. Materiał biologiczny został opracowany zgodnie z Instrukcją Głównego Lekarza Weterynarii w celu uzyskania osadu do posiewów na podłoża hodowlane (Stonenbrinka, Petragnaniego i Loewensteina – Jensena). Wyizolowane szczepy zostały poddane genotypizacji testem GenoType MTBC Hain Lifescience (Niemcy). Test ten bazuje na polimorfizmie genu kodującego gyrase B. Procedura składa się z trzech etapów, wyodrębnienia ze szczepów materiału genetycznego, amplifikacji przy użyciu primerów wyznakowanych biotyną oraz hybrydyzacji. Dostarczony w zestawie wzorzec umożliwia szybką i prostą interpretację.

**Wyniki i omówienie:** *M. bovis* był jedynym gatunkiem prątków występującym w tkankach pobranych od zwierząt. Badaniom naukowym poddano 61 szczepów, z czego 47 sklasyfikowano jako *Mycobacterium bovis subsp. bovis* i 14 jako *Mycobacterium bovis subsp. caprae*. Wśród szczepów bydlęcych 47 należało do podgatunku *bovis*, a 11 do podgatunku *caprae*. Szczepy wyizolowane z tkanek tapirów i żubra należały do podgatunku *caprae*.

Do niedawna identyfikacja prątków na gatunki *M. tuberculosis* i *M. bovis* oraz na podgatunki opierała się na wykonaniu szeregu testów biochemicznych, które były czasochłonne i skomplikowane. Od kiedy niemiecka firma Hain wprowadziła na rynek gotowe zestawy, identyfikacja prątków możliwa jest w standardowo wyposażonej pracowni biologii molekularnej. Identyfikacja wyhodowanych szczepów stała się niezbędnym narzędziem w epidemiologii gruźlicy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Costello E., O'Grady D., Flynn O., O'Brien R., Rogers M., Quigley F., Egan J., Griffin J., 1999. Study of restriction fragment length polymorphism analysis and spoligotyping for epidemiological investigation of *Mycobacterium bovis* infection. J. Clin. Microbiol., 37, 3217–3222.
- [2] Augustynowicz-Kopeć E., Krajewska M., Zabost A., Napiórkowska A., Zwolska Z., 2011. Characterisation of *Mycobacterium bovis* strains isolated from farm and wild animals from Poland. Bull. Vet. Inst. Puławy, 55, 381–383.





## ZRÓŻNICOWANIE GENETYCZNE SZCZEPÓW *PASTEURELLA DAGMATIS* IZOLOWANYCH OD RÓŻNYCH GATUNKÓW ZWIERZĄT-GOSPODARZY

### GENETIC DIVERSITY OF *PASTEURELLA DAGMATIS* STRAINS ISOLATED FROM VARIOUS ANIMAL HOSTS

Jarosław Król, Magdalena Florek, Zdzisław Staroniewicz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii, Zakład Mikrobiologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: jaroslaw.krol@up.wroc.pl

*Pasteurella dagmatis* jest Gram-ujemną pałeczką zasiedlającą błony śluzowe jamy ustnej i górnych dróg oddechowych u psów i kotów [1]. Drobnoustroj ten jest potencjalnym patogenem dla tych zwierząt, a także bywa stwierdzany w przypadkach różnych zakażeń u ludzi. Szybkie i dokładne rozpoznawanie omawianej bakterii jest więc istotne z punktu widzenia zarówno diagnostyki weterynaryjnej, jak i medycznej. Identyfikacja fenotypowa bakterii z rodzaju *Pasteurella* napotyka wciąż wiele trudności, dlatego wiele laboratoriów wykorzystuje w tym celu metody molekularne, w tym analizę sekwencyjną genu 16S rRNA [3]. Stwierdzano jednak różnice w obrębie wspomnianego genu u szczepów *P. dagmatis* [2], co może utrudniać identyfikację tej bakterii.

**Cel pracy:** Analiza porównawcza fragmentów genów 16S rRNA oraz *rpoB* szczepów *P. dagmatis* izolowanych od różnych gatunków zwierząt, a także opracowanie metod molekularnych pozwalających na różnicowanie izolatów tego drobnoustroju pochodzących od psów i kotowatych.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 15 izolatach terenowych *P. dagmatis* (w tym 11 pochodzących od kotów, 3 od psów i 1 od tygrysa syberyjskiego) oraz szczepie referencyjnym tej bakterii (izolowanym od psa). Szczepy terenowe były identyfikowane fenotypowo oraz za pomocą reakcji PCR ze starterami specyficznymi dla *P. dagmatis*. Po izolacji DNA bakteryjnego (Genomic Mini, A&A Biotechnology) przeprowadzono amplifikację fragmentów genów 16S rRNA i *rpoB* (o wielkości, odpowiednio, 1403 i 560 p.z.), a następnie sekwencjonowanie produktów PCR (Genomed, Warszawa). Otrzymane sekwencje zostały porównane przy użyciu programu ClustalW (BioEdit). Do różnicowania subpopulacji *P. dagmatis* wykorzystano technikę RFLP, w której odpowiedni fragment genu 16S rRNA poddany został trawieniu za pomocą enzymu restrykcyjnego *TaqI*.

**Wyniki i omówienie:** Analiza sekwencji genu 16S rRNA wykazała, że wszystkie izolaty *P. dagmatis* pochodzące od psów cechowały się wysokim stopniem podobieństwa omawianego genu (ok. 99,8%) do sekwencji szczepu typowego tej bakterii. Natomiast sekwencje genu 16S rRNA szczepów izolowanych od kotów były praktycznie identyczne z sekwencją jednego ze szczepów referencyjnych *P. pneumotropica*. Wzajemne podobieństwo omawianych sekwencji pomiędzy szczepami *P. dagmatis* wyosobnionymi od psów oraz kotów wynosiło tylko 97,5–97,6%, co świadczy, że obie subpopulacje *P. dagmatis* stanowią odrębne linie ewolucyjne o randze co najmniej podgatunków. Odrębność genetyczna „kociej” i „psiej” linii *P. dagmatis* została potwierdzona przez analizę sekwencyjną genu *rpoB*. Obie te subpopulacje *P. dagmatis* mogą być rozróżniane wyłącznie za pomocą metod genotypowych, a opracowana w tym celu technika PCR-RFLP może znaleźć praktyczne zastosowanie w badaniach epidemiologicznych, w przypadkach zakażeń u człowieka powodowanych przez *P. dagmatis*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bisgaard M., 1993. Ecology and significance of *Pasteurellaceae* in animals. Zbl. Bakt., 279, 7–26.
- [2] Sellyei B., Wehmann E., Makrai L., Magyar T., 2010. Characterisation of *Pasteurella dagmatis*-like isolates recovered from the feline oral cavity. Vet. Microbiol., 145, 279–285.
- [3] Wallet F., Touré F., Devalckenaere A., Pagniez D., Courcol R.J., 2000. Molecular identification of *Pasteurella dagmatis* peritonitis in a patient undergoing peritoneal dialysis. J. Clin. Microbiol., 38, 4681–4682.





## ZMIANY W CYTOSZKIELECIE AKTYNOWYM I TUBULINOWYM W KOMÓRKACH L929 ZAKAŻONYCH WIRUSEM EKTROMELII

### ECTROMELIA VIRUS-INDUCED CHANGES IN THE ACTIN AND TUBULIN CYTOSKELETON OF THE INFECTED L929 CELLS

Lidia Szulc, Anna Boratyńska-Jasińska, Justyna Struzik, Marek Niemiałtowski

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Przedklinicznych, Zakład Immunologii, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, e-mail: lidia\_szulc@sggw.pl

Wirus ektromelii (ECTV), należący do rodzaju *Orthopoxvirus* rodziny *Poxviridae*, jest naturalnym patogenem myszy laboratoryjnych, wywołującym chorobę zwaną ospą myszy. ECTV jest blisko spokrewniony z wirusem ospy prawdziwej (VARV), wywołującym wysoce zakaźną i śmiertelną chorobę – ospę prawdziwą (czarną, ludzką). Wirusy w różnorodny sposób wykorzystują cytoszkielet w trakcie swojego cyklu replikacyjnego, m.in. do transportu zarówno wewnątrz, jak i na zewnątrz zakażonych komórek.

**Cel badań:** Ocena wpływu zakażenia szczepu Moscow ECTV (ECTV-MOS) na architekturę cytoszkieletu aktynowego i tubulinowego permissywnych komórek L929 (H-2<sup>k</sup>).

**Materiał i metody:** W celu analizy cytoszkieletu aktynowego i tubulinowego komórki L929 utrwalano odpowiednio 4% roztworem paraformaldehydu (PFA, Sigma) lub schłodzonym do -20°C metanolem (POCh). Wewnątrzkomórkowo antygeny ECTV wykrywano poliklonalnymi przeciwciałami (pAb) anty-ECTV-MOS skoniugowanymi z FITC, F-aktynę – TRITC-falloidyną (Sigma),  $\alpha$ -tubulinę – nieznakowanymi mysimi Ab anty- $\alpha$ -tubulina (Sigma) oraz pAb anty-mysie IgG-Rodamina RedX (Jackson ImmunoResearch), DNA – Hoechst 33342 (Calbiochem). Preparaty analizowano przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego Olympus BX60 wyposażonego w kamerę Color View III i oprogramowanie Cell<sup>^</sup>F.

**Wyniki:** Zakażone komórki wytwarzały dwa podstawowe rodzaje wypustek aktynowych: i) długie oraz ii) krótkie, drobne wypustki. Długie wypustki aktynowe przyjmowały postać cienkich, nitkowatych rurek lub szerokich, palczastych korytarzy cytoplazmatycznych. We wnętrzu rurek i korytarzy, na całej długości obserwowano liczne wiriony ECTV-MOS. Wśród drobnych wypustek aktynowych główną grupę stanowiły ogony aktynowe i dendryty. W komórkach L929 zakażonych ECTV-MOS w 4 godz. po zakażeniu (g.p.z.) obserwowano kolokalizację wirionów z włóknami tubulinowymi. Wiriony przemieszczały się do obszaru w pobliżu centrum organizacji mikrotubul (MTOC). W 18–24 g.p.z. obserwowano zanik MTOC, wciąż natomiast obserwowano kolokalizację tubuliny z licznymi potomnymi cząstkami wirusowymi, również na peryferiach komórki.

**Wnioski i omówienie:** Podczas zakażenia ECTV-MOS komórek permissywnych L929 dochodzi do radykalnych zmian w architekturze cytoszkieletu aktynowego i tubulinowego, wykorzystywanego przez ECTV-MOS do przemieszczania się wewnątrz oraz poza komórkę. Ponieważ wypustki wytwarzane przez komórki L929 pod wpływem ECTV-MOS obserwowano wcześniej w komórkach linii Vero i BALB/3T3 [1, 2], uzyskane wyniki sugerują, że sposób oddziaływania ECTV-MOS na cytoszkielet komórek permissywnych jest uniwersalny w warunkach *in vitro* i niewykluczone, że istnieje również *in vivo*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Boratyńska A., Martyniszyn L., Szulc L., Niemiałtowski M.G., 2011. Membrane bridges and their role in the spread of ectromelia virus *in vitro*, *Medycyna Weterynaryjna*, 67, 474–477.
- [2] Boratyńska A., Martyniszyn L., Szulc L., Szczepanowska J., Krzyżowska M., Niemiałtowski M., 2010. Contribution of rearranged actin structures to the spread of ectromelia virus infection *in vitro*, *Acta Virologica*, 54, 41–48.

Badania finansowane w ramach wewnętrznego trybu konkursowego na prowadzenie badań naukowych służących rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich w SGGW nr 505-10-02340050 (dla JS).



## IZOLACJA *B. SUIIS* BIOTYP 2 OD BYDŁA

### ISOLATION OF *B. SUIIS* BIOVAR 2 FROM CATTLE

Krzysztof Szulowski, Wojciech Iwaniak, Marcin Weiner

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: kszjanow@piwet.pulawy.pl

Brucelozą bydła jest przewlekłą chorobą zakaźną powodowaną przez pałeczki *B. abortus*, rzadziej *B. melitensis*, wyjątkowo przez *B. suis*. W Unii Europejskiej (UE) choroba ta została zwalczona w większości krajów, które zgodnie z Dyrektywą 64/432/EEC uznawane są za urzędowo wolne od brucelozy bydła. Pomimo posiadania takiego statusu kraje te zobowiązane są do prowadzenia monitoringu serologicznego, celem zapobieżenia ewentualnego ponownego rozprzestrzenienia się choroby. W Polsce brucelozą bydła została zwalczona w 1980 r., ale zgodnie z zapisami tej Dyrektywy status kraju urzędowo wolnego od brucelozy bydła uzyskano dopiero w 2009 r. (Commission Decision 2009/600/EC). Z drugiej strony, stwierdzono, że w Polsce naturalnym rezerwuarem pałeczek *Brucella* są dzikie zwierzęta – dziki i zające. W badaniach serologicznych w 12,3% surowic dzików i ok. 1% surowic od zajęcy obserwowano obecność przeciwciał anti-*Brucella*. Wyniki te potwierdzano izolacją bruceli z materiału pobranego od zajęcy i dzików. We wszystkich przypadkach był to biotyp 2 *B. suis*.

**Cel badań:** Ocena występowania pałeczek *Brucella* u zwierząt poddanych ubojowi po dodatnim wyniku badania serologicznego w kierunku brucelozy.

**Materiał i metody:** Analizą objęto materiał od 176 sztuk bydła z lat 2002–2011. Zwierzęta te poddawano w Krajowym Laboratorium Referencyjnym Brucelozy (KLRB) badaniu serologicznemu z zastosowaniem następujących metod: odczyn kwaśnej aglutynacji płytowej (OKAP), odczyn aglutynacji probówkowej (OA), odczyn wiązania dopełniacza (OWD), odczyn antyglobulinowy Coombsa (OAG), odczyn z 2-merkaptopetanołem (OME) i ELISA. Po uznaniu tych zwierząt za reagujące dodatnio w kierunku brucelozy materiał od nich każdorazowo poddawano badaniu bakteriologicznemu w kierunku izolacji i identyfikacji drobnoustrojów *Brucella*. Posiewów materiału dokonywano się na podłożu stałym – agarze z glukozą i surowicą oraz dodatkiem selektywnym (SDA+SS) i podłożu płynnym – bulionie z glukozą i surowicą oraz dodatkiem selektywnym (SDB+SS). Identyfikacji bruceli dokonywano poprzez wykonanie szeregu testów: aglutynacji szkiełkowej z surowicą anti-*Brucella*, aglutynacji szkiełkowej z surowicami monowalentnymi anti-A i anti-M, z akryflawiną, na katalazę, na zapotrzebowanie CO<sub>2</sub> do wzrostu, na ureazę, na siarkowodór, na wzrost *Brucella* w obecności barwników fuksyny zasadowej i tioniny, barwienia metodą Grama, barwienia metodą Ziehl-Neelsen'a, testu bakteriolizy przez bakteriofagi. Dodatkowo zastosowano nowoczesne narzędzia diagnostyki molekularnej, Bruce-ladder PCR i metodę VNTR (ang. variable number tandem repeat).

**Wyniki i omówienie:** Spośród 176 przebadanych zwierząt w 5 przypadkach stwierdzono obecność pałeczek *Brucella*. Kolonie bruceli na podłożu stałym obserwowano po 3 dobach. Trzy spośród dodatnich w badaniu bakteriologicznym zwierząt pochodziły z tego samego gospodarstwa, dwa pozostałe były jedynymi w stadzie reagentami. Wszystkie izolaty miały podobną charakterystykę: aglutynowały z surowicą anti-*Brucella* i surowicą monowalentną anti-A, pozytywnie reagowały w testach na oksydazę, katalazę i ureazę, nie wymagały do wzrostu CO<sub>2</sub>, produkowały H<sub>2</sub>S, wzrastały na podłożu z tioniną, a nie rosły na podłożu z fuksyną zasadową, podlegały lizie przez bakteriofaga Tbilisi w koncentracji 10<sup>4</sup> × RTD. Taka charakterystyka jest typowa dla *B. suis* biotyp 2. Wyniki te potwierdzono w badaniach molekularnych: Bruce-ladder PCR pozwolił na potwierdzenie przynależności izolatów do gatunku *B. suis*, natomiast w VNTR uzyskano profil typowy dla biotypu 2 *B. suis*. Uzyskane wyniki wskazują, że to dzikie zwierzęta mogą stanowić w Polsce źródło zakażeń pałeczkami *Brucella* dla bydła.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Szulowski K., Iwaniak W., Weiner M., Złotnicka J., Szymajda M., Zaręba Z., Czępińska H., 2012. Diagnostyka i sytuacja epidemiologiczna brucelozy bydła w Polsce. Med. Wet., 68, 110–113.



## TRANSKRYPTOMICZNY OBRAZ PRZECIWSTRAWNEGO ODDZIAŁYWANIA MIOSTATYNY I FOLISTATYNY NA RÓŻNICOWANIE MIOBLASTÓW MYSICH LINII C2C12

### TRANSCRIPTOMIC PICTURE OF THE OPPOSITE IMPACT OF MYOSTATIN AND FOLLISTATIN ON THE C2C12 MOUSE MYOBLASTS DIFFERENTIATION

Zofia Wicik, Michał Jank, Tomasz Sadkowski, Tomasz Motyl

SGGW, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Fizjologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: tomasz\_motyl@sggw.pl

Przeprowadzone badania miały na celu lepsze poznanie regulacji procesu miogenezy, poprzez zbadanie oddziaływania na transkryptom komórek mięśniowych miostatyny, najsilniejszego inhibitora różnicowania oraz zastosowanie jej antagonisty folistatyny. Miostatyna (GDF8- myszy, MSTN- ludzie) jest czynnikiem wzrostowym należącym do nadrodziny TGF- $\beta$ , będącym negatywnym regulatorem wzrostu tkanki mięśniowej. Folistatyna (FST- myszy, FS- ludzie) jest znana jako niezwykle silny antagonist miostatyny i aktywin, który poprzez ich wiązanie może wpływać na zwiększenie siły i masy mięśniowej [1].

**Cel badań:** Wskazanie genów regulowanych przeciwstawnie pod wpływem GDF8 i FS. Zakładano, że pozwoli to precyzyjnie wskazać na ekspresję jakich genów, a co za tym idzie, na jakie funkcje molekularne, procesy biologiczne oraz szlaki sygnałowe wpływa miostatyna.

**Materiał i metody:** Wpływ 20 nM GDF8 i 6,45 nM FS288 na proces 6-dniowego różnicowania mioblastów mysich został określony poprzez pomiar IOD (Integrated Optical Density) immunofluorescencji łańcuchów ciężkich miozyny (MyHC) za pomocą programu MicroImage. W mikroskopie kontrastowo fazowym udokumentowano przebieg hodowli oraz po wybarwieniu jąder komórkowych barwnikiem Giemsy określono liczbę i typ miotub w hodowli. Zastosowanie techniki mikromacierzy pozwoliło na zbadanie przeciwstawnego oddziaływania GDF8 i FS na poziomie transkryptomu. Zmiany ekspresji genów ( $P \leq 0,05$ ) zostały określone za pomocą oligonukleotydowych mikromacierzy mysich (Agilent) oraz potwierdzone dla wybranych genów za pomocą Real Time PCR (Light Cycler, Roche).

**Wyniki i omówienie:** Hamujący wpływ GDF8 oraz stymulujący FS na różnicowanie mioblastów został wykazany poprzez wpływ na ilość i rozmiar miotub. Analiza statystyczna badań transkryptomicznych wykazała 155 genów regulowanych przeciwstawnie pod wpływem GDF8 i FS. Dzięki analizie ontologicznej wykazano, że miostatyno-zależny wpływ na proces miogenezy jest powiązany ze zmianą ekspresji 39 genów zaangażowanych w procesy rozwojowe (m.in. *Hgf*, *Fgf2*, *Myf6*, *Cdc42*, *Sort1*), 23 regulatorów procesu transkrypcji (m.in. *Stat1*, *Lef1*, *Lmo1*), 13 genów kodujących białka wiążące wapń (m.in. *Trdn*, *Mmp3*, *Nkd*) oraz odpowiedzialnych za procesy adhezji i cytoskielet aktynowy (m.in. *Itga-6*, *Itgb-1,3*, *Tmod1*, *Tubd1*). Bazując na uzyskanych wynikach, można wnioskować, że efekty oddziaływania miostatyny opierają się na regulacji transkrypcji i zmianie ekspresji genów zaangażowanych w procesy rozwojowe, wiązanie wapnia oraz wpływie na adhezję komórkową i strukturę cytoskieletu komórki. Można również przypuszczać, że drugorzędowy wpływ GDF8 na proces różnicowania mioblastów jest wywierany poprzez zmiany ekspresji genów *Mef2c*, *Edn1* i *Fst*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cash J., Rejon C., McPherron A., Bernard D., Thompson T., 2009. The structure of myostatin: follistatin 288: insights into receptor utilization and heparin binding. EMBO J 28, 2662–2676.

Badania zostały wykonane w ramach grantu No:3458/B/P01/2010/39 przyznanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.



## ZNACZENIE KOMÓREK MACIERZYSTYCH W NOWOTWORACH WĄTROBY U SZCZURÓW

### SIGNIFICANCE OF STEM CELLS IN HEPATOCARCINOGENESIS IN RATS

Marta Wójcik, Mario Giorgi, Ryszard Bobowiec

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych, Zakład Patofizjologii, e-mail: marta.wojcik@up.lublin.pl

Przez długi czas uważano, że to nadmierna proliferacja dojrzałych hepatocytów jest źródłem nowotworów wątroby, w tym przede wszystkim raka wątrobowokomórkowego (*hepatocellular carcinoma* – HCC), rozwijającego się u starych psów, rzadziej kotów i koni [1, 2]. Dopiero rezultaty ostatnich badań przeprowadzonych z wykorzystaniem licznych zwierzęcych modeli hepatokarcinogenezy dają dowód na to, iż rozwój HCC jest poprzedzony aktywacją bipotencjalnych komórek owalnych (KO), zasiedlających strefę okołowrotną kanałów Heringa.

Biorąc pod uwagę fakt, iż nadmierna proliferacja KO bez prawidłowego ich różnicowania może prowadzić do rozwoju nowotworu, celem pracy było określenie aktywności proliferacyjnej i różnicowania KO wyizolowanych od szczurów poddanych działaniu diethylnitrozoaminy (DEN). Dodatkowo postanowiliśmy określić wpływ resweratrolu (Res) na parametry równowagi oksydo-redukcyjnej wyizolowanych komórek.

**Materiał i metody:** W celu indukcji KO u szczurów rasy Wistar wykonano w znieczuleniu ogólnym częściową hepatektomię (PH), a następnie podawano 0,005% roztwór diethylnitrozoaminy (DEN) w wodzie do picia [3]. Po 6 tygodniach przyjmowania karcinogenu, przeprowadzono izolację KO metodą perfuzji wątroby. Przyklejone do podłoża komórki inkubowano: bez dodatku Res (kontrola); I – z dodatkiem 1,0  $\mu\text{M}/\text{ml}$  Res; II – z dodatkiem 25  $\mu\text{M}/\text{ml}$  Res; III – z dodatkiem 100  $\mu\text{M}/\text{ml}$  do pożywki hodowlanej. Po 24., 48. i 72. godz. inkubacji analizowano aktywność proliferacyjną KO na podstawie testu MTT oraz uwalnianie anionorodnika ponadtlenkowego ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) metodą Conffera.

**Wyniki i omówienie:** W warunkach kontrolnych aktywność proliferacyjna KO wzrastała od  $0,945 \pm 0,02$  do  $1,525 \pm 0,031$  odpowiednio po 24 i 72 godzinach. Zastosowanie 1,0  $\mu\text{M}$  Res, doprowadziło do uzyskania najniższej, obserwowanej w 24 godzinie hodowli, wartości indeksu proliferacji ( $\text{PI} = 0,81 \pm 0,014$ ). Również po 72 godzinach, najsilniejsze właściwości hamujące proliferację KO miał Res w stężeniu 1,0  $\mu\text{M}$ . Ekspozycja KO na Res w stężeniu 25  $\mu\text{M}$  doprowadziła do istotnie statystycznie mniejszego uwalniania  $\text{O}_2^{\cdot-}$  w porównaniu do kontroli. Najwyższe użyte w doświadczeniu stężenie Res ograniczało uwalnianie tego rodniaka jedynie po 48 i 72 godz. inkubacji. Kontrolne stężenie MDA w podłożu hodowlanym systematycznie wzrastało wraz z czasem trwania hodowli, osiągając wartość  $0,7 \pm 0,07$  nM/ml po 72 godz. Znaczący ( $p \leq 0,05$ ) spadek MDA utrzymujący się przez cały okres inkubacji KO obserwowano jedynie pod wpływem 25  $\mu\text{M}$  Res, gdzie maksymalna wartość MDA nie przekraczała  $0,19 \pm 0,009$  nM. Aktywność proliferacyjna KO izolowanych od szczurów poddanych działaniu chemicznego karcinogenu nasilała się wraz z czasem trwania hodowli. Ponadto antyproliferacyjny oraz hamujący uwalnianie  $\text{O}_2^{\cdot-}$  wpływ Res przez neoplastyczne KO szczura zależy od stężenia fitoestrogenu oraz czasu ekspozycji KO na jego działanie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Libbrecht L., Roskams T., 2002. Hepatic progenitor cells in human liver diseases. *Cell. Dev. Biol.*, 13, 389–396.
- [2] Shiga A., Shirota K., Enomoto M., 2001. Combined Hepatocellular and Cholangiocellular carcinoma in a dog. *J. Vet. Med. Sci.*, 63, 483–486.
- [3] Wójcik M., Bobowiec R., Martelli F., 2008. Effect of carotenoids on in vitro proliferation and differentiation of oval cells during neoplastic and non-neoplastic injuries in rats. *J. Physiol. Pharmacol.*, 59, Supl., 2, 203–213.





## UDZIAŁ KOMÓREK T REGULATOROWYCH W ROZWOJU CIA U SZCZURÓW

## PARTICIPATION OF REGULATORY T CELLS IN THE DEVELOPMENT OF CIA IN RATS

Isaura Zaleska, Anna Chełmońska-Soyta, Kornel Ratajczak

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: isaura.zaleska@up.wroc.pl

Komórki T regulatorowe (Treg) stanowią subpopulację limfocytów T i charakteryzują się fenotypem CD4+CD25+FOXP3+. Ich supresorowe właściwości w wyciszaniu ognisk autoagresywnych są obiektem intensywnych badań na całym świecie i dają nadzieję za zastosowanie Treg w terapii komórkowej ukierunkowanej na takie choroby jak reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) czy stwardnienie rozsiane (SM). Rola Treg w przebiegu schorzeń o podłożu autoagresywnym jest badana na zwierzęcych modelach chorób autoimmunologicznych, które pozwalają charakteryzować Treg oraz ich funkcję w aspekcie terapeutycznym.

**Cel pracy:** Określenie roli komórek T regulatorowych w rozwoju CIA (ang. *collagen induced arthritis*) u szczurów Wistar – szczególnie dynamik zmian ich liczby w trakcie rozwoju modelowego RZS i ekspresji genów *foxp3*, *jak1*, *stat1*, *socs2*.

**Materiał i metody:** Materiałem do badań było 30 6-tygodniowych samic szczurów Wistar, u których wywołano CIA, immunizując je mieszaniną kolagenu bydlęcego typu II (CII) z niekompletnym adjuwantem Freund'a (IFA – ang. *incomplete Freund's adjuvant*) w stosunku 1:1. Zwierzęta doświadczalne podzielono na 5 grup badawczych, w obrębie każdej z grup były podgrupa kontrolna, immunizowana IFA, i właściwa, immunizowana mieszaniną CII i IFA. Co 7 dni poddawano eutanazji 1 grupę badawczą. Od każdego osobnika w obrębie grupy pobierano krew na surowicę oraz śledzionę. Obecność przeciwciał anti-CII w surowicy krwi oznaczano testem ELISA. Liczbę Treg określano na podstawie badania frekwencji wybarwionych splenocytów w kierunku antygenów CD4, CD25, FOXP3 metodą cytometryczną. Ze splenocytów izolowano mRNA, które po przepisaniu na cDNA poddawano reakcji real-time PCR w celu zbadania ekspresji *foxp3*, *jak1*, *stat1*, *socs2*, wobec genu referencyjnego  $\beta$ -aktyny.

**Wyniki i omówienie:** W przypadku RZS obserwowano zarówno zwiększoną, jak i zmniejszoną frekwencję Treg [1]. U badanych zwierząt liczba śledzionowych komórek CD4+CD25+FOXP3+ zmieniała się wraz z rozwojem wyindukowanego reumatoidalnego zapalenia stawów, co wskazuje, że indukowana odpowiedź wobec antygenów tkankowo swoistych może polaryzować obwodową odpowiedź odpornościową w kierunku Treg. Czynnikiem indukującym ekspansję komórek Treg oprócz swoistego antygeny może być sam IFA, na co wskazuje przyrost liczby komórek Treg w grupie kontrolnej, immunizowanej samym adjuwantem.

Liniowa dynamika ekspresji *jak1* i gwałtowny wzrost liczby transkryptomów *stat1* wydają się być skorelowane z rozwojem stanu zapalnego. Natomiast ekspresja *foxp3* wyraźnie wzrasta u szczurów, które były immunizowane IFA+CII. Wzrost ekspresji czynnika transkrypcyjnego *foxp3* w trakcie rozwoju CIA może być skorelowany ze wzrostem liczby komórek Treg.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Miyara M., Gorocho G., Ehrenstein M., Musset L., Sacaguchi S., Amoura Z., 2011. Human FoxP3+ regulatory T-cells in systemic autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*, 10, 744–755.
- [2] Sakaguchi S., Wing K., Onishi Y., Prieto-Martin P., Yamaguchi T., 2009. Regulatory T-cells how do they suppress immune responses? *International Immunology*, Vol., 21, No. 10, pp. 1105–1111.
- [3] Sakaguchi S., Fukuma K., Kuribayashi K., Masuda T., 1985. Organ-specific autoimmune diseases induced in mice by elimination of T cell subset. I. Evidence for the active participation of T-cells in natural self-tolerance; deficit of a T cell subset as a possible cause of autoimmune disease. *J. Exp. Med.*, 161, 72–87.





## WYKRYWANIE MARKERÓW CHOROBOTWÓRCZOŚCI U SZCZEPÓW *YERSINIA ENTEROCOLITICA* IZOLOWANYCH OD JELENI (*CERVUS ELAPHUS*) I SAREN (*CAPREOLUS CAPREOLUS*)

### DETECTION OF VIRULENCE MARKERS IN *YERSINIA ENTEROCOLITICA* STRAINS ISOLATED FROM RED DEERS (*CERVUS ELAPHUS*) AND ROE DEERS (*CAPREOLUS CAPREOLUS*)

Agata Banczerz-Kisiel<sup>1</sup>, Anna Szczerba-Turek<sup>1</sup>, Aleksandra Platt-Samoraj<sup>1</sup>, Karolina Lipczyńska<sup>1</sup>,  
Piotr Socha<sup>2</sup>, Wojciech Szweda<sup>1</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii,

<sup>2</sup>Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: a.banczerz-kisiel@uwm.edu.pl

Zwierzęta wolno żyjące stanowią interesujący temat badawczy, zwłaszcza w aspekcie weterynaryjnym. Postrzegane są bowiem jako jeden z istotniejszych rezerwuarów zarazków groźnych dla zdrowia i życia innych gatunków zwierząt oraz dla człowieka. Jednym z takich drobnoustrojów jest *Yersinia (Y.) enterocolitica*, wywołująca jersiniozę. Biorąc pod uwagę fakt, iż dziczyzna znajduje coraz częściej uznanie konsumentów oraz uwzględniając główną drogę zakażenia człowieka, należy stwierdzić, iż nieodpowiednio obrobione termicznie mięso, pochodzące od zwierząt wolno żyjących, może stanowić potencjalne źródło zakażenia ludzi.

Uwzględniając powyższe aspekty, zdecydowano się na poszukiwanie i charakterystykę bio- i serotypową oraz molekularną pałeczek *Y. enterocolitica* w wymazach z odbytu jeleni szlachetnych (*Cervus elaphus*) i saren zwyczajnych (*Capreolus capreolus*), pozyskanych na terenie północno-wschodniej Polski.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły 32 wymazy z odbytu, pobrane od 16 jeleni oraz 48 wymazów z odbytu od 24 saren. Od każdego zwierzęcia pobierano po 2 wymazy, ze względu na psychrofilne właściwości *Y. enterocolitica* i konieczność prowadzenia dwóch rodzajów hodowli. Dalszy tok postępowania był identyczny dla obu próbek. Badania biotypujące wykonano zgodnie z obowiązującą w Polsce normą, badania serotypujące natomiast przeprowadzono testem aglutynacji szkiełkowej z zastosowaniem komercyjnych surowic diagnostycznych (ITEST, Czechy). Genomowe DNA izolowano przy użyciu kitu „Genomic Mini” (A&A Biotechnology, Gdynia, Poland), a reakcję triplex PCR przeprowadzono z zastosowaniem polimerazy HotStarTaq Plus DNA (Qiagen) and HotStarTaq Plus Master Mix Kit (Qiagen). Skład mieszaniny reakcyjnej oraz profil temperaturowo-czasowy opublikowano w innej pracy [1].

**Wyniki i omówienie:** Szczepy *Y. enterocolitica* wyizolowano od 2 z 16 jeleni (12,5%), oba pochodziły z hodowli zimnej (PSB) i należały do biotypu 1A. Badania serotypujące wykazały, że jeden należał do serotypu O:8, a drugi nie aglutynował z żadną z zastosowanych surowic diagnostycznych i uznany został za nietypujący się. W przypadku saren przypuszczalnie chorobotwórcze szczepy *Y. enterocolitica* wyizolowano od jednego zwierzęcia (4,16%), ale z obu rodzajów hodowli. Były to dwa różne szczepy, bowiem jeden należał do serotypu O:5, biotypu 1A, drugi zaś uznany został za nietypujący się. W badaniach molekularnych u wszystkich wyizolowanych szczepów *Y. enterocolitica* stwierdzono amplikony genu *ystB*, na podstawie obecności prążka wielkości 180 bp. Badania wykazały, że zarówno jeleń szlachetny, jak i sarna zwyczajna mogą być nosicielami i siewcami pałeczek *Y. enterocolitica* oraz potencjalnym źródłem zakażenia dla człowieka. Wyizolowane szczepy charakteryzowały się dużym zróżnicowaniem bioserotypowym i obecnością amplikonów genu *ystB*, uznawanego za jeden z markerów chorobotwórczości [2].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Banczerz-Kisiel A., Szczerba-Turek A., Platt-Samoraj A., Socha P., Szweda W., 2009. Application of multiplex PCR for the evaluation of the occurrence of *ail*, *ystA*, and *ystB* genes in *Yersinia enterocolitica* strains isolated from wild boars (*Sus scrofa*). Bull. Vet. Inst. Pulawy, 53, 351–355.
- [2] Platt-Samoraj A., Banczerz-Kisiel A., Szweda W., 2006. Zjadliwość *Yersinia enterocolitica* oraz znaczenie biotypu 1A w patogenezie jersiniozy. Med. Wet., 62, 1113–1115.



## OCENA WYSTĘPOWANIA MUTACJI W SEKWENCJI NUKLEOTYDOWEJ GENU *YMOA* SZCZEPÓW *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

### EVALUATION OF MUTATION OCCURRENCE IN NUCLEOTIDE SEQUENCE OF *YMOA* GENE OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* STRAINS

Agata Banczerz-Kisiel, Anna Szczerba-Turek, Aleksandra Platt-Samoraj, Karolina Lipczyńska,  
Wojciech Szweda

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: a.banczerz-kisiel@uwm.edu.pl

Jednym z bardzo istotnych markerów wirulencji, charakterystycznych dla wszystkich szczepów *Yersinia* (*Y.*) *enterocolitica*, jest gen *yst*, kodujący produkcję enterotoksyn Yst. Jednak nie wszystkie szczepy posiadające geny *yst* produkują odpowiednie enterotoksyny, czego przyczyną zdaje się być działanie genu *ymoA*, kodującego produkcję białka YmoA, odgrywającego hamującą rolę w ekspresji różnych genów [1]. We wcześniejszych pracach wykazano jednak, że sama obecność genu *ymoA* nie wpływa na zdolność do produkcji toksyn, a przyczynę tego wpływu należy być może upatrywać w istnieniu mutacji w obrębie tego genu.

Z tego względu zdecydowano się na ocenę występowania mutacji w sekwencji nukleotydowej amplikonów genu *ymoA* szczepów *Y. enterocolitica* jako prawdopodobnej przyczyny zróżnicowanych właściwości toksynotwórczych.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 30 szczepów *Y. enterocolitica* o zróżnicowanych właściwościach toksynotwórczych, wyizolowanych od trzody chlewnej oraz 30 szczepów pochodzących z klinicznych przypadków jersiniozy u ludzi. Etapem wstępnym był PCR z użyciem starterów dla genu *ymoA*. Oczyszczone przy użyciu zestawu CleanUp produkty PCR (*ymoA*) poddano sekwencjonowaniu w firmie Genomed Sp. z o.o. Serwis Sekwencjonowania i Syntezy Oligonukleotydów Diagnostyka Genetyczna w Warszawie. Do analizy sekwencji nukleotydowych wykorzystano oprogramowanie Fitch TV 1.4.0., Reverse Complement, BioEdit Sequence Alignment Editor, metodę Clustal W, BLASTN wersja 2.2.18 oraz przeszukano bazy sekwencji GenBank+EMBL+DDBJ+PDB.

**Wyniki i omówienie:** Sekwencje nukleotydowe uzyskane z amplikonów po złożeniu i przycięciu posiadały 318 pz. Przyłączały się w pozycji 3387283-3387600 w genomie „*Yersinia enterocolitica* subsp. *enterocolitica* 8081” znajdującym się w banku genów National Centre for Biotechnology Information GenBank numer AM286415, w którym w pozycji 3386958-3387326 kodowany jest gen odpowiedzialny za produkcję hipotetycznie konserwatywnego białka (numer w banku genów CAL13149), natomiast w pozycji 3387372-3387575 kodowany jest gen *ymoA* odpowiedzialny za produkcję białka YmoA (numer w banku genów CAL13150). Po analizie filogenetycznej izolatów własnych wykazano, że część sekwencji nukleotydowych amplikonów *Y. enterocolitica* wyizolowanych z przypadków klinicznych od ludzi charakteryzowało się sekwencją nukleotydową w 100% identyczną z sekwencją nukleotydową *Y. enterocolitica* AM286415. Natomiast w przypadku 30 sekwencji nukleotydowych amplikonów *Y. enterocolitica* wyizolowanych od świń i pozostałych sekwencji nukleotydowych *Y. enterocolitica* wyizolowanych z przypadków klinicznych od ludzi w obrębie badanego regionu wykazano 2 mutacje punktowe: tranzycję A3387326G i insercję A w pozycji 3387368. Tranzycja A3387326G dotyczyła końcowego fragmentu regionu kodującego białko konserwatywne oraz kodon stop. Stwierdzona insercja nukleotydu A występowała w obrębie regionu niekodującego w badanym obszarze i nie zmieniała ramki odczytu dla kodonu start genu *ymoA* znajdującego się w pozycji 3387372. Nie stwierdzono zatem korelacji między wykazanymi mutacjami a zdolnością do produkcji enterotoksyny YstA *in vivo*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Banos R.C., Pons J.I., Madrid C., Juarez A., 2008. A global modulatory role for the *Yersinia enterocolitica* H-NS protein. *Microbiology*, 154, 1281–1289.



## OCENA WYSTĘPOWANIA MUTACJI W SEKWENCJI NUKLEOTYDOWEJ GENU YSTA SZCZEPÓW *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

### EVALUATION OF MUTATION OCCURRENCE IN NUCLEOTIDE SEQUENCE OF *YSTA* GENE OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* STRAINS

Agata Banczerz-Kisiel, Anna Szczerba-Turek, Aleksandra Platt-Samoraj, Karolina Lipczyńska,  
Wojciech Szweda

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: a.banczerz-kisiel@uwm.edu.pl

Jednym z bardzo istotnych markerów wirulencji, charakterystycznych dla wszystkich szczepów *Yersinia* (*Y.*) *enterocolitica* jest gen *yst*, kodujący produkcję enterotoksyn Yst. Zdolność produkcji enterotoksyny nie występuje u wszystkich szczepów, wykazano ją natomiast u szczepów chorobotwórczych, izolowanych z przypadków klinicznych jersiniozy, co pozwoliło przypuszczać, iż odgrywa ona istotną rolę w etiologii biegunki, występującej w przebiegu choroby. Niestety, samo wykazanie genu *yst* nie jest równoznacznie z produkcją enterotoksyn.

Uwzględniając powyższe aspekty, zdecydowano się na ocenę występowania mutacji w sekwencji nukleotydowej amplikonów genu *ystA* szczepów *Y. enterocolitica* jako prawdopodobnej przyczyny zróżnicowanych właściwości toksynotwórczych.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 30 szczepów *Y. enterocolitica* o zróżnicowanych właściwościach toksynotwórczych, wyizolowanych od trzody chlewnej oraz 30 szczepów pochodzących z klinicznych przypadków jersiniozy u ludzi. Etapem wstępnym był PCR z użyciem starterów dla genu *ystA* [1]. Oczyszczone przy użyciu zestawu CleanUp produkty PCR poddano sekwencjonowaniu w firmie Genomed Sp. z o.o. Serwis Sekwencjonowania i Syntezy Oligonukleotydów Diagnostyka Genetyczna w Warszawie. Do analizy sekwencji nukleotydowych wykorzystano oprogramowanie Fitch TV 1.4.0., Reverse Complement, BioEdit Sequence Alignment Editor, metodę Clustal W, BLASTN wersja 2.2.18 oraz przeszukano bazy sekwencji GenBank+EMBL+DDBJ+PDB.

**Wyniki i omówienie:** Sekwencje nukleotydowe uzyskane z amplikonów po złożeniu i przycięciu posiadały 150 pz. W tak krótkim fragmencie wykazano trzy mutacje: transwersję C1073615G oraz dwie tranzycje: C1973707T i T1973708C w odniesieniu do kompletnego genomu *Y. enterocolitica* AM286415. Uznano zatem za konieczne zbadanie dłuższej sekwencji nukleotydowej genu *ystA*, co wiązało się z koniecznością zaprojektowania nowych starterów, zoptymalizowania reakcji i zbadania nowopowstałej sekwencji. Startery dla genu *ystA* zaprojektowano w oparciu o sekwencję genu umieszczoną w GenBanku (D63578), za pomocą programu Primer-BLAST, dostępnego na stronie NCBI (National Centre for Biotechnology Information) i uzyskano starter *ystA*-1 (Forward) o sekwencji 5' TGCGTGGTAGACCGCAAAAACA 3', długości 22 nukleotydów, przyłączający się w pozycji 956-977 oraz starter *ystA*-2 (Reverse) 5' AGCCAGCACACGCGGGATTG 3', 20-nukleotydowy, przyłączający się w pozycji 1299-1280. Dzięki temu uzyskano amplikony wielkości 344 pz, zawierające wcześniej analizowany fragment nukleotydowy. Sekwencje nukleotydowe uzyskane z amplikonów po złożeniu i przycięciu posiadały 305 pz. Dokładna analiza filogenetyczna nie potwierdziła wcześniejszych przypuszczeń odnośnie istnienia mutacji punktowych w obrębie badanego regionu. Nie stwierdzono zatem korelacji między wykazanymi mutacjami a zdolnością do produkcji enterotoksyny YstA *in vivo*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Platt-Samoraj A., Ugorski M., Szweda W., Szczerba-Turek A., Wojciech Ł., Procajło Z., 2006. Analysis of the presence of *ail*, *ystA* and *ystB* genes in *Yersinia enterocolitica* strains isolated from aborting sows and aborted fetuses. J. Vet. Med., B 53, 341–346.

**MORFOMETRIA SERCA NORKI AMERYKAŃSKIEJ (NEOVISON VISON)****MORPHOMETRY OF THE HEART OF THE AMERICAN MINK (NEOVISON VISON)**

**Karolina Barszcz<sup>1</sup>, Marta Kupczyńska<sup>1</sup>, Anna Jakubczak<sup>2</sup>, Sabina Kuk<sup>2</sup>, Emilia Liwocha<sup>2</sup>,  
Katarzyna Pęzińska<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Morfologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: karolina.barszcz@onet.eu

<sup>2</sup>Studentki IV roku Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie

<sup>3</sup>Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Zakład Anatomii Zwierząt, ul. Doktora Judyma 14, 71-466 Szczecin

W literaturze dostępnych jest wiele publikacji odnoszących się do morfometrii i morfotypów serca różnych gatunków. Wśród mięsożerców zagadnienia te zostały szczegółowo opracowane u psa i kota domowego [1, 2]. Brak natomiast podobnej analizy w odniesieniu do innych przedstawicieli wspomnianej grupy zwierząt. Przeprowadzone obserwacje własne są uzupełnieniem w zakresie anatomii porównawczej.

**Cel badań:** Przeprowadzenie szczegółowej morfometrii sylwetki serca norki amerykańskiej.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 50 zwłokach (25♂ i 25♀) norki amerykańskiej. Masę ciała (m.c.) określono przy użyciu wagi dla zwierząt MENSOR WM150P1. Serca po wyizolowaniu ze zwłok poddano szczegółowej preparacji anatomicznej. Odcinano worek osierdziowy w miejscu jego przyczepu do podstawy serca oraz usuwano wszystkie pnie naczyniowe (aortę wstępującą, pień tt. płucnych, żż. płucne, ż. główną doczaszkową, ż. główną doogonową). Utrwalanie preparatów przeprowadzono w roztworze 10% formaldehydu i 0,25% etanolu przez okres ok. 6 tygodni. W celu maksymalnego zlikwidowania wpływu procesu utrwalania na masę serca usuwano wspomniany roztwór z jam tego narządu za pomocą ssaka mechanicznego SU 2 (AGA LABOR) oraz dokładnie osuszano cały preparat bibułą filtracyjną. Masę serc (m.s.) ustalono na wadze laboratoryjnej AXIS AD2000 z dokładnością odczytu do 0,01 g. Morfometrię przeprowadzono przy użyciu mikroskopu operacyjnego z integralnym torem wizyjnym i oprogramowaniem do analizy metrycznej obrazu, opierając się na ustalonych stałe punktach odniesień. Określono: wysokość serca (H) jako maksymalną odległość pomiędzy koniuszkiem serca i podstawą serca oraz szerokość serca (W) jako maksymalną odległość pomiędzy brzegiem komorowym lewym i brzegiem komorowym prawym. Na podstawie uzyskanych danych wyliczono indeks określający udział procentowy masy serca w stosunku do masy ciała:  $I_1 = \frac{m.s.}{m.c.} \times 100$ .

**Wyniki i omówienie:** W przebadanej grupie nerek amerykańskich średnia masa ciała samców wyniosła 2860 g, natomiast samic 1320 g. W badanym materiale stwierdzono, że wysokość serca (28,95–45,58 mm) u wszystkich osobników była większa od jego szerokości (23,82–35,90 mm). Średnia masa serca wyniosła: ♂ = 16,14 g i ♀ = 9,95 g. Porównanie danych cech jedynie o ich parametry bezwzględne nie jest jednak obiektywne. Stąd też powszechnym narzędziem stosowanym w takiej ocenie jest obliczanie indeksów, czyli wartości względnych. Dla ustalenia ewentualnej zmienności masy serca u samców w porównaniu z samicami wyliczono  $I_1$ . Otrzymane średnie wartości tego indeksu dla samców wyniosły 0,75 a dla samic 0,56. Stwierdzono wyraźny dymorfizm płciowy w zakresie badanego indeksu. Na podkreślenie zasługuje fakt, że w przypadku innych gatunków zwierząt nie odnotowano istotnych różnic pomiędzy samcami a samicami. Badania przeprowadzone na sercach żubrów wykazały, że stosunek masy serca do masy ciała u dorosłych osobników osiąga 0,5%. W odniesieniu do konia podaje się, że średnia masa narządu u tego gatunku wynosi 4 kg i stanowi 0,7% masy ciała. Natomiast różnice jakie są zauważane, dotyczą użytkowania oraz kondycji poszczególnych osobników.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Grandjean D., 2005. The Royal Canin dog encyclopedia. Aniwa SA, Paris.
- [2] Paragon B-M., Vaissaire J-P., 2005. The Royal Canine Cat Encyclopedia. Aniwa SA, Paris.





## MORFOMETRIA SERCA NORNICY RUDEJ (*MYODES GLAREOLUS*)

### MORPHOMETRY OF THE HEART OF THE BANK VOLE (*MYODES GLAREOLUS*)

Karolina Barszcz<sup>1</sup>, Blanka Orłowska<sup>2</sup>, Marta Kupczyńska<sup>1</sup>, Michał Wąsowicz<sup>1</sup>, Iwona Mróz<sup>3</sup>, Rafał Łopucki<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Morfologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: karolina.barszcz@onet.eu

<sup>2</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

<sup>3</sup>Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II, Katedra Ekologii Stosowanej, Al. Raławickie 14, 20-950 Lublin

W zakresie morfometrii serca najwięcej prac dotyczy ludzi. Publikacje te stanowią podstawę metodyczną mierzenia, ważenia oraz wyliczania względnej masy tego narządu [1, 2]. Szczegółowe badania morfometryczne serca prowadzono również u niektórych gatunków zwierząt. Interesującym jest fakt, że najczęściej obiektem badań były egzotyczne gatunki ptaków.

**Cel badań:** Przeprowadzenie szczegółowej morfometrii sylwetki serca nornicy rudej.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 23 zwłokach (12♂ i 11♀) nornicy rudej. Osobniki pozyskano z Nadleśnictwa Stuposiany, w związku z projektem „Poszukiwanie rezerwuarów prątków gruźlicy wśród ssaków drapieżnych i gryzoni na terenie Bieszczad”. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej nr III (uchwała nr 48/2011 z dnia 26 X 2011). Masę ciała nornic (m.c.) określono przy użyciu wagi laboratoryjnej AXIS AD2000 z dokładnością odczytu do 0,01 g. Serca po wyizolowaniu ze zwłok poddano szczegółowej preparacji anatomicznej. Odcinano worek osierdziowy w miejscu jego przyłączenia do podstawy serca oraz usuwano wszystkie pnie naczyń (aortę wstępującą, pień tt. płucnych, żż. płucne, ż. główną doczaszkową, ż. główną doogonową). Utrwalanie preparatów przeprowadzono w roztworze 10% formaldehydu i 0,25% etanolu przez okres ok. 6 tygodni. W celu maksymalnego zlikwidowania wpływu procesu utrwalania na masę serca cały preparat dokładnie osuszano bibułą filtracyjną. Masę serc (m.s.) ustalono na wadze laboratoryjnej AXIS AD2000 z dokładnością odczytu do 0,01 g. Morfometrię przeprowadzono przy użyciu mikroskopu operacyjnego z integralnym torem wizyjnym i oprogramowaniem do analizy metrycznej obrazu, opierając się na ustalonych stałych punktach odniesień. Określono: wysokość serca (H) jako maksymalną odległość pomiędzy koniuszkiem serca i podstawą serca, szerokość serca (W) jako maksymalną odległość pomiędzy brzegiem komorowym lewym i brzegiem komorowym prawym. Na podstawie uzyskanych danych wyliczono indeks określający udział procentowy masy serca w stosunku do masy ciała:  $I_1 = \frac{m.s.}{m.c.} \times 100$ .

**Wyniki i omówienie:** W badanym materiale stwierdzono, że wysokość serca (6,41–9,72 mm) u wszystkich osobników jest większa od szerokości serca (4,89–8,03 mm). W przebadanej grupie nornicy rudej średnia masa ciała wyniosła 18,52 g, natomiast średnia masa serca 0,13 g. Procentowy udział masy serca w stosunku do masy ciała ( $I_1$ ) wyniósł 0,70. W przypadku nornicy rudej tak jak u wielu innych gatunków zwierząt nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy samcami a samicami. Przykładem może być pies domowy, u którego względna masa serca mieści się w granicach 0,64–0,78. Według danych literaturowych średnia względna masa serca kota domowego wynosi 0,55 dla samców i 0,51 dla samic. Badania przeprowadzone na sercach zębów wykazały, że stosunek masy serca do masy ciała u dorosłych osobników osiąga 0,5.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cunha D.F., da Cunha S.F.C., dos Reis M.A., Teixeira V.P.A., 2002. Heart weight and heart weight/body weight coefficient in malnourished adults. *Arq Bras Cardiol.*, 78, 4, 382–387.
- [2] Skwarek M., Grzybiak M., Kosiński A., Hreczecha J., 2006. Basic axes of human heart in correlation with heart mass and right ventricular wall thickness. *Folia Morphol.*, 65, 4, 385–389.





## WPŁYW ACYCLOWIRU I CIDOFOWIRU NA PIERWOTNĄ HODOWLĘ MYSICH NEURONÓW ZAKAŻONĄ SZCZEPAMI LUDZKIEGO HERPESWIRUSA TYPU 1 (HSV-1) O RÓŻNEJ WRAŻLIWOŚCI NA ACYCLOWIR

### THE INFLUENCE OF ACYCLOVIR AND CIDOFOVIR ON PRIMARY MURINE NEURONS INFECTED WITH ACYCLOVIR-RESISTANT AND ACYCLOVIR-SUSCEPTIBLE HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE 1 (HSV-1)

Joanna Cymerys<sup>1</sup>, Anna Golke<sup>1</sup>, Anna Słońska<sup>1</sup>, Tomasz Dzieciatkowski<sup>2</sup>, Anna Tucholska<sup>1</sup>, Anna Chmielewska<sup>1</sup>, Marcin W. Bańbura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Przedklinicznych, Zakład Wirusologii, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

<sup>2</sup>Warszawski Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa, e-mail: jcymerys@op.pl

Główną strategią obrony herpeswirusów, w tym wirusa opryszczki pospolitej (HSV-1), jest ukrywanie się przed układem immunologicznym poprzez ustalanie latencji w jądrach neuronów i innych komórek. Reaktywacja herpeswirusów ze stanu latencji prowadzi do zakażeń wtórnych, które mogą mieć rozmaity charakter. Celem leczenia przeciwwirusowego jest więc zablokowanie replikacji wirusa. Należy jednak pamiętać, że jak dotąd, nie ma sposobu, aby pozbyć się wirusa opryszczki definitywnie, jednakże stosując odpowiednie leczenie, można: skrócić czas trwania objawów, wydłużyć czas pomiędzy kolejnymi nawrotami oraz zmniejszyć ryzyko zakażenia. Biorąc pod uwagę tropizm HSV-1 do neuronów, celem prezentowanej pracy było sprawdzenie działania dwóch powszechnie stosowanych leków (acyklowiru i cidofowiru) zwalczających HSV-1, bezpośrednio w hodowli komórek nerwowych zakażonych szczepami klinicznymi wirusa opryszczki pospolitej o różnej wrażliwości na acyklowir.

**Materiał i metody:** Badania zostały przeprowadzone *in vitro*, z wykorzystaniem hodowli pierwotnej mysich neuronów, uzyskiwanych wg protokołu izolacji Cymerys i wsp. [1]. Do zakażenia neuronów użyto czterech szczepów HSV-1: (i) HSV-1 McIntyre- standard laboratoryjny wrażliwy na acyklowir; (ii) HSV-1 „2” – izolat kliniczny, wrażliwy na acyklowir; (iii) HSV-1 „5” – izolat kliniczny, oporny na acyklowir oraz (iv) HSV-1 PT366 – standard laboratoryjny, o podwyższonej oporności na acyklowir. Testem immunofluorescencji bezpośredniej wykrywano obecność antygeny wirusowego w zakażonych neuronach. Obserwacji preparatów dokonano w mikroskopie konfokalnym (Leica SD AF). Aktywność przeciwwirusową acyklowiru (64 i 128 µg/ml) i cidofowiru (16 i 64 µg/ml) oceniono na podstawie zmiany ilości wirusowego DNA, techniką real-time PCR.

**Wyniki i omówienie:** Pozytywne wyniki badań immunofluorescencyjnych oraz real-time PCR wskazują na wysoką koncentrację wirusa w neuronach i świadczą, że HSV-1 replikuje się w mysich neuronach hodowanych *in vitro* bez konieczności adaptacji. Antygeny wirusowe obserwowano zarówno w jądrze, jak i w cytoplazmie neuronów. Wysoki poziom wirusowego DNA rejestrowano w przypadku zakażenia izolatami klinicznymi HSV-1 oraz standardem laboratoryjnym, wrażliwym na acyklowir (48 g.p.z.), natomiast niższy poziom obserwowano w przypadku standardu laboratoryjnego o podwyższonej oporności na acyklowir. Zastosowanie acyklowiru spowodowało istotny spadek replikacji HSV-1 w neuronach, we wszystkich badanych szczepach, nie wpłynęło natomiast na poziom replikacji standardu laboratoryjnego HSV-1 o podwyższonej oporności na acyklowir (48 g.p.z.). Inkubacja neuronów z cidofowirem okazała się skutecznie obniżyć ilość wirusowego DNA, w przypadku wszystkich badanych szczepów HSV-1, szczególnie w przypadku izolatu klinicznego opornego na acyklowir, co może sugerować jego zastosowanie w zastępczej terapii przeciwwirusowej, przeciwko szczepom HSV-1.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cymerys J., Dzieciatkowski T., Słońska A., Bierla J., Tucholska A., Chmielewska A., Golke A., Bańbura M.W., 2010. Equine herpesvirus type 1 (EHV-1) replication in primary murine neurons culture. Pol. J. Vet. Sci., 13, 701–708.



## IDENTYFIKACJA I OCENA PRZECIWBAKTERYJNEJ AKTYWNOŚCI PAŁECZEK Z RODZAJU *LACTOBACILLUS* IZOLOWANYCH OD GĘSI

### IDENTIFICATION AND EVALUATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *LACTOBACILLUS* STRAINS ISOLATED FROM GEESE

Marta Dec<sup>1</sup>, Andrzej Puchalski<sup>1</sup>, Stanisław Tokarzewski<sup>2</sup>, Renata Urban-Chmiel<sup>1</sup>, Andrzej Wernicki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Prewencji Weterynaryjnej, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, e-mail: marta.dec@up.lublin.pl

<sup>2</sup>Specjalistyczna Przychodnia Weterynaryjna Chorób Ptaków Avi Expert, ul. Gajowa 1, 20-827 Lublin

Pałeczki z rodzaju *Lactobacillus* jako naturalne składowe mikroflory błon śluzowych pełnią ważną rolę w utrzymywaniu i promowaniu zdrowia gospodarza. Ich prozdrowotne właściwości oparte są między innymi na działaniu antagonistycznym w stosunku do mikroflory patogennej. Dzięki adhezji do enterocytów bakterie te minimalizują, na zasadzie konkurencyjnego wykluczania, dostęp patogenów do komórek nabłonka jelit, a tym samym hamują rozwój infekcji. Ponadto, produkują substancje o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, tj. kwasy organiczne, nadtlenek wodoru, bakteriocyny i inne. Ze względu na prozdrowotne działanie szczepy probiotyczne z rodzaju *Lactobacillus* mają zastosowanie w medycynie ludzkiej i weterynaryjnej.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki kału lub wymazy z kloaki pobrane od 70 gęsi rasy białej kołudzkiej. Bakterie kwasu mlekowego hodowano na podłożu MRS (BTL) w atmosferze zawierającej 5% CO<sub>2</sub>. Wyizolowane bakterie identyfikowano przy zastosowaniu trzech metod: spektrometrii mas, elektroforezy SDS-PAGE (lizaty komórek) oraz ITS-PCR [1]. Przeciwbakteryjną aktywność wybranych 78 szczepów bakterii kwasu mlekowego oceniano za pomocą metody słupkowej [2] wobec szczepów wzorcowych takich jak: *E. coli*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serowar Enteritidis, *Pasteurella multocida*, *Riemerella anatipestifer* i *Clostridium perfringens*. Zdolność pałeczek *Lactobacillus* do wytwarzania nadtlenu wodoru oceniano na podstawie intensywności zabarwienia kolonii wyrosłych na agarze MRS zawierającym dodatek TMB oraz peroksydazy chrzanowej.

**Wyniki i omówienie:** Wszystkie bakterie wyrosłe na podłożu MRS były katalazoujemne, Gram-dodatnie i wykazywały morfologię pałeczek. Na podstawie zastosowanych metod identyfikacji spośród wyizolowanych bakterii 129 szczepów zaklasyfikowano do rodzaju *Lactobacillus*. Należały one do następujących gatunków: *L. salivarius* (47 szczepów), *L. johnsonii* (28), *L. ingluviei* (14), *L. agilis* (10), *L. reuteri* (6), *L. plantarum* (5), *L. crispatus* (6), *L. paracaei* (3), *L. amylovorus* (2), *L. mucosae* (3), *L. oris* (2), *L. farciminis* (1), *L. zeae* (1), *L. kitasatonis* (1). Spektrometria mas jest metodą pozwalającą na szybką identyfikację wielu szczepów jednocześnie, jednak uzyskane wyniki nie zawsze są wystarczająco wiarygodne. Z tego względu wskazane jest sprawdzenie wątpliwych wyników metodą elektroforetyczną lub ITS-PCR. Badane szczepy bakterii fermentacji mlekowej wykazywały zróżnicowaną aktywność w stosunku do bakterii chorobotwórczych. Średnice stref zahamowania wzrostu bakterii testowych wynosiły od 0 do 25,5 mm. Silny antagonizm wobec wszystkich szczepów testowych wykazywały bakterie z gatunku *L. salivarius* oraz *L. plantarum*. Największą wrażliwością na działanie pałeczek *Lactobacillus* odznaczała się *P. multocida* i *R. anatipestifer*. 75 spośród 78 badanych szczepów wykazywało zdolność do produkcji H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Doświadczenie pozwoliło na wyselekcjonowanie kilkunastu szczepów bakterii kwasu mlekowego silnie hamujących wzrost bakterii chorobotwórczych. Ich przeciwdrobnoustrojowa aktywność oparta jest na produkcji substancji o charakterze przeciwbakteryjnym. Wyselekcjonowane szczepy są potencjalnymi drobnoustrojami przywracającymi równowagę mikroflory jeli-towej gęsi i mogą być rozważane jako alternatywa dla terapii antybiotykowej.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kizerwetter-Swida M., Binek M., 2005. Selection of potentially probiotic *Lactobacillus* strains towards their inhibitory activity against poultry enteropathogenic bacteria. Pol. J. Microbiol. 54:4, 287–294.
- [2] Struś M., 1998. Nowa metoda oceny antagonistycznego działania bakterii kwasu mlekowego (LAB) na wybrane chorobotwórcze bakterie wskaźnikowe. Med. Dośw. Mikrobiol. 50, 123–130.



## LOCALIZATION AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF PRIMARY SENSORY NEURONS SUPPLYING THE HIP JOINT CAPSULE IN THE SHEEP

### LOKALIZACJA I IMMUNOHISTOCHEMICZNA CHARAKTERYSTYKA NEURONÓW CZUCIOWYCH ZAOPATRUJĄCYCH TOREBKĘ STAWU BIODROWEGO OWCY

Agnieszka Dudek<sup>1</sup>, Waldemar Sienkiewicz<sup>1</sup>, Maciej Janeczek<sup>2</sup>, Jerzy Kaleczyc<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Anatomy, Poland, e-mail:agnieszka.dudek@uwm.edu.pl

<sup>2</sup>Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Division of Animal Anatomy

Until now the localization of the sensory neurons supplying the hip joint capsule has been studied in the laboratory animals however there is no data dealing with the distribution and immunohistochemical properties of sensory neurons supplying the hip joint capsule in large animals including the sheep.

**Material and methods:** The study was carried out on 5 sexually mature sheep, weighing around 50 kg each. The animals were housed and treated in accordance with the rules approved by the local Ethics Commission. All the sheep were deeply anesthetized and injected with 20 µl of 5% water suspension of a retrograde tracer Fast blue (FB) into the lateral side of the right hip joint capsule. After a survival period of 5 weeks, the animals were reanesthetized and transcardially perfused with 4% buffered paraformaldehyde. The spinal cord with dorsal root ganglia (DRG) and the right hip joint were collected and processed for further investigations. The preparations were examined under a fluorescent microscope equipped with appropriate filter for Fast Blue.

**Results and discussion:** FB+ neurons were found within ipsilateral dorsal root ganglia from L3 to S4. They were round or oval in shape with a diameter from 20 to 100 µm. The neurons were evenly distributed throughout the ganglia. The largest average number of FB+ neurons was found within the sixth lumbar (95 neurons per ganglion) (n/g) and first sacral (84 n/g) DRG while L3 (9 n/g) and S4 (8 n/g) ganglia contained the smallest numbers of the neurons. In L4, L5, S2 and S3 ganglia mean numbers of retrogradely labeled neurons were 11, 52, 22 and 43, respectively. The sections containing FB+ neurons were processed for double-immunofluorescence method using antisera against CGRP and SP. Preparations were studied with a confocal microscope (Zeiss LSM 700). It was found that numerous FB+ neurons stained for these substances.



## CZY ZAKAŻENIA GRZYBAMI STRZĘPKOWYMI NADAL SĄ PROBLEMEM U ZWIERZĄT TOWARZYSZĄCYCH?

### SKIN INFECTIONS CAUSED BY MYCELIAL FUNGI – ARE THEY STILL A PROBLEM IN COMPANION ANIMALS?

Bożena Dworecka-Kaszak

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Przedklinicznych, Zakład Mykologii, Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, e-mail: bozena\_kaszak@sggw.pl

Grzybice skóry to choroby zwierząt i ludzi, powodowane przez drożdżaki z rodzaju *Candida* i *Malassezia* lub grzyby strzępkowe, głównie dermatofity z rodzaju *Microsporum*, *Epidermophyton* lub *Trichophyton*. Do wyjątków należą zakażenia strzępkowymi oportunistami z rodzaju *Alternaria* czy *Cladosporium*, ale zwykle towarzyszy temu obniżona odporność gospodarza. Chore zwierzęta są źródłem zakażenia dla innych zwierząt i dla ludzi. Największe zagrożenie stanowią „pets” – zwierzęta towarzyszące człowiekowi: psy, koty, gryzonie, a ostatnio również konie wierzchowe. Choroby skóry są najczęstszą przyczyną wizyt w gabinetach weterynaryjnych. Tylko ich część stanowią pierwotne zakażenia grzybicze. Infekcje grzybami drożdżopodobnymi towarzyszą zwykle innym chorobom pierwotnym np. AZS lub alergii na ugryzienia pcheł.

**Cel pracy:** Analizowano częstość występowania grzybiczych czynników etiologicznych zakażeń skóry na przestrzeni lat.

**Materiały i metody:** Ogółem oceniano 5210 próbek pochodzących od różnych zwierząt wykazujących klinicznie zmiany skórne, poddając je rutynowym badaniom mikologicznym.

**Wyniki i omówienie:** Zaobserwowano znaczny wzrost izolacji grzybów z rodzaju *Alternaria* i innych niedermatofitów jako jedyne go czynnika etiologicznego; w latach 2002–2006 i wcześniejszych wśród pozytywnych wyników hodowli z materiału pobranego ze zmienionej skóry izolowano jako w zaledwie 3,2%, podczas gdy w okresie 2007–2011 odnotowano już 15,5% izolacji. Ogólny odsetek izolacji dermatofitów wzrósł nieznacznie w ostatnim 5-leciu (10,3%) w stosunku do okresu 2002–2006 (8,2%), najdrastyczej jednak odsetek ten zwiększył się u gryzoni (z 8,2% do 32,1%). Zdecydowanie wzrósł również ogólny odsetek pozytywnych mikologicznie wyników badania zmienionej klinicznie skóry zwierząt (z 34,1 do 46,3%), a przyczyny tego zjawiska będą w pracy dyskutowane.

GRZYBY Z RODZAJU *CANDIDA* IZOLOWANE OD PSÓWFUNGI OF *CANDIDA* GENUS ISOLATED FROM DOGS

Magdalena Florek, Jarosław Król, Zdzisław Staroniewicz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii,  
Zakład Mikrobiologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: magdalena.florek@up.wroc.pl

Drożdżaki należące do rodzaju *Candida* zaliczane są do mikroorganizmów oportunistycznych będących przyczyną schorzeń ludzi i zwierząt. Grzyby te mogą powodować schorzenia błon śluzowych, skóry, tkanki podskórnej, przydatków skóry, narządów i układów, a także posocznice [1]. U psów grzybice przez nie powodowane nie są tak powszechne jak u ludzi, aczkolwiek w piśmiennictwie pojawiają się dość częste doniesienia na ten temat. Najistotniejszą rolę odgrywają tu grzyby należące do gatunków: *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* i *Candida tropicalis*.

**Cel badań:** Ocena składu gatunkowego drożdżaków z rodzaju *Candida* izolowanych od psów, a także ocena ich właściwości biochemicznych oraz enzymatycznych mogących stanowić potencjalne czynniki zjadliwości tych mikroorganizmów; ponadto badanie lekowrażliwości pozyskanych izolatów.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły wymazy pobrane ze skóry i błon śluzowych psów chorych (77) i zdrowych (66). Identyfikacji izolatów dokonano za pomocą testu API 20 AUX firmy bioMérieux. Poszczególne szczepy poddane zostały badaniom właściwości proteolitycznych i lipolitycznych (przy użyciu podłoży odpowiednio: Steiba i Wernera – Krajewska-Kułak [1], aktywności enzymów hydrolitycznych (test API ZYM - bioMérieux). Oceniano także ich właściwości hydrofobowe (test wysalania SAT – Kwaśniewska, 2002) oraz zdolności adhezji [3]. Do badania lekowrażliwości wykorzystano metodę dyfuzyjno-krażkową.

**Wyniki i omówienie:** Z badanego materiału wyosobnio 20 izolatów należących do rodzaju *Candida*, w tym: *C. albicans* (8 izolatów), *C. famata* (2), *C. glabrata* (2), *C. guilliermondii* (2), *C. tropicalis* (3) *C. parapsilosis* (2) oraz *Candida* sp. (1). Aktywność proteolityczną stwierdzono u 70% badanych szczepów a silną aktywność lipolityczną u 75%. Najwyższą aktywność hydrolityczną odnotowano dla arylamidazy leucynowej (10–20 nmoli), a następnie dla esterazy (C4) i N- acetylo- $\beta$ -glukozydazy (5–10 nmoli). W zależności od użytego buforu zjawisko autoagregacji wykazywało 5–10%, a agregacji ulegało 10–20% badanych szczepów. Średnia liczba komórek grzybów przylegających do komórki nabłonka policzka wyniosła 17. Odnotowano statystycznie istotną różnicę ( $p < 0,0001$ ) przylegania komórek pomiędzy *C. albicans* i *Candida* spp. Ocena lekooporności grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida* wykazała najwyższą wrażliwość tych mikroorganizmów na klotrimazol i tiokonazol (90%), a następnie ketokonazol i mikonazol (75%). Zaobserwowano pełną oporność badanych drożdżaków na pimarycyne (100%) i stosunkowo wysoką (70%) w stosunku do nystatyny.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Staroniewicz Z., Florek M., Król J., 2008. Grzyby drożdżopodobne w zakażeniach u psów. Mikol. Lek., 15, 176-79.
- [2] Krajewska-Kułak E., Niczyporuk W., 1997. Aktywność lipolityczna i proteolityczna szczepów *Candida albicans* a ich wrażliwość na antymikotyki. Mikol. Lek., 4, 197–203.
- [3] Kwaśniewska J., Supel A., 2002. Właściwości hydrofobowe szczepów *Candida albicans* wyodrębnionych z zarażeń wieloogniskowych u partnerów seksualnych. Mikol. Lek., 9, 119–124.
- [4] Macura A., Sysło B., 1994. Aktywność proteolityczna i zdolność adherencji grzybów *Candida albicans*. Mikol. Lek., 1, 7–10.





## PROFILE TRANSKRYPTOMICZNE BŁONY ŚLIZOWEJ JELITA CIENKIEGO, WĄTROBY I MIĘŚNI SZKIELETOWYCH NOWO NARODZONYCH PROSIĄT ŻYWIANYCH MLEKIEM MATKI LUB OTRZYMUJĄCYCH PREPARAT MLEKOZASTĘPCZY SUPLEMENTOWANY OLEJEM RYBNYM

### TRANSCRIPTOMIC PROFILE OF SMALL INTESTINE, LIVER AND MUSCLE OF PIGLETS FED SOWS' MILK OR FORMULA SUPPLEMENTED WITH FISH OIL

Katarzyna Gaca, Bożena Bałasińska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Fizjologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: kasia\_wojcieszak@wp.pl

Ponieważ ciągle brakuje jednoznacznych danych dotyczących molekularnego mechanizmu działania PUFA, zwłaszcza DHA (kwas dokozaheksaenowy) i EPA (kwas eikozapentaenowy), dlatego celem badań była ocena wpływu karmienia prosiąt mlekiem maciory lub preparatem mlekozastępczym na transkryptom jelita cienkiego, wątroby oraz mięśni szkieletowych prosiąt we wczesnym okresie pourodzeniowym.

**Materiały i metody:** Badania przeprowadzono na 12 ciężarnych lochach, pierwiastkach – mieszańcach ras: Polska Biała Zwisłoucha i Pietrain. W 80. dniu ciąży lochy losowo podzielono na dwie grupy: kontrolną i doświadczalną. Wszystkie lochy karmiono paszą standardową, przy czym lochy grupy doświadczalnej w czasie ciąży oraz podczas laktacji otrzymywały w diecie olej rybny. Dwanaście prosiąt (PK – karmione przez kontrolne lochy, PS – karmione przez suplementowane lochy), pozostawiono przy matkach do 28. dnia ich życia. Prosięta karmione preparatem mlekozastępczym zostały pobrane od loch z grupy kontrolnej (po dwa prosięta o średniej masie ciała) w 7. dniu laktacji i karmione preparatem mlekozastępczym również do 28. dnia ich życia. Po jednym prosięciu z każdej pary przydzielano do grupy PP – karmionej preparatem mlekozastępczym oraz do grupy PPS – karmionej preparatem mlekozastępczym i dodatkowo otrzymującym bezpośrednio do pyska 1 ml oleju rybnego na dobę. W 28. dniu życia prosięta usypiano i pobierano próbki jelita czczego, wątroby i mięśnia czworogłowy uda. Porównanie profilu transkryptomycznego prosiąt przeprowadzono wykorzystując mikromacierze świńskie.

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzona analiza transkryptomu wykazała, że zarówno suplementacja diety matki, jak również preparatu mlekozastępczego olejem rybnym miała wpływ na zmianę ekspresji genów w jelicie, wątrobie i mięśniu prosiąt. Najmniejsze zmiany w profilu transkryptomycznym badanych tkanek zwierząt zaobserwowano w mięśniu czworogłowym uda prosiąt, natomiast największe zmiany dotyczyły ekspresji genów w wątrobie. Interpretacja wyników przeprowadzona za pomocą programu Panther Classification System wskazała, że funkcjonalnie geny o zwiększonej ekspresji w badanych grupach zwierząt były związane z metabolizmem lipidów, prawidłowym funkcjonowaniem błon komórkowych oraz procesami obronnymi i odpornościowymi. Dalsza analiza wyników ujawniła również, że największe zmiany w ekspresji genów związanych z metabolizmem lipidów były obserwowane u prosiąt karmionych preparatem mlekozastępczym w jelicie – 31 genów, w wątrobie – 29 genów oraz w mięśniu – 21 genów. Natomiast w tkankach prosiąt karmionych mlekiem matki wykazano zmiany ekspresji genów zaangażowanych w przemiany kwasów tłuszczowych w jelicie – 8 genów i wątrobie – 7 genów.

Otrzymane wyniki mikromacierzowe zostały zweryfikowane metodą łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym (real-timePCR).

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cleves M.A., Badeaux J., Blackburn M.L., Badger T.M., Ronis M.J.J., Chen Y., Shankar K., Gomez-Acevedo H., 2011. Formula feeding alters hepatic gene expression signature, iron and cholesterol homeostasis in the neonatal pig. *Physiol. Genomics*, 43, 1281–1293.
- [2] Nakamura M.T., Cheon Y., TY Y. Li. Nara, 2004. Mechanisms of regulation of gene expression by fatty acids. *Lipids.*, 11, 1077–1083.



## ANALIZA WRAŻLIWOŚCI NA ACYKLOWIR I CIDOFOWIR KOŃSKIEGO HERPESWIRUSA TYPU I (EHV-1) W WARUNKACH *IN VITRO*

### *IN VITRO* SUSCEPTIBILITY OF EQUID HERPESVIRUS TYPE 1 (EHV-1) TO ACYCLOVIR AND CIDOFIVIR

Anna Golke<sup>1</sup>, Anna Słońska<sup>1</sup>, Joanna Cymerys<sup>1</sup>, Tomasz Dzieciatkowski<sup>2</sup>, Anna Tucholska<sup>1</sup>,  
Anna Chmielewska<sup>1</sup>, Marcin W. Bańbura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Przedklinicznych, Zakład Wirusologii, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa

<sup>2</sup> Warszawski Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa, e-mail: anna\_golke@interia.eu

Koński herpeswirus typu 1 (Equid herpesvirus type 1, EHV-1) występuje powszechnie na całym świecie. Zakażenie przebiegać może w trzech formach: oddechowej, nerwowej i poronieniowej, przy czym największe znaczenie mają zakażenia występujące u źrebnych klaczy przebiegające z poronieniem. Ronienia występują również u klaczy immunologicznie doświadczonych, które wcześniej przebyły zakażenie. Niestety, dostępne szczepionki nie zawsze zapewniają pełną ochronę przed zakażeniem EHV-1 lub ochrona ta może być krótkotrwała. Wyniki badań *in vitro* dotyczących wykorzystania leków przeciwwirusowych w terapii zakażeń wywołanych przez EHV-1 są niejednoznaczne, co może wynikać z zastosowania w badaniach różnych, często heterologicznych linii komórkowych. Jak dotąd, nie prowadzono również w tym zakresie żadnych badań na pierwotnych hodowlach neuronów. Z tego względu, celem pracy było określenie wrażliwości dwóch szczepów (terenowego i referencyjnego) EHV-1 na leki przeciwwirusowe (acyklowir i cidofowir) w linii komórkowej ED (skóra konia) oraz w pierwotnej hodowli neuronów mysich.

**Materiał i metody:** Badania zostały przeprowadzone *in vitro* z wykorzystaniem ustalonej linii komórkowej ED oraz pierwotnych hodowli neuronów pochodzących z mózgów płodów myszy BALB/c, założonych zgodnie z opisaną uprzednio procedurą [1]. Aktywność przeciwwirusowa acyklowiru i cidofowiru oceniona została na podstawie redukcji ilości lysinek w hodowli ED zakażonej EHV-1 z dodatkiem leków w dwukrotnie wzrastających stężeniach, jak również na podstawie zmniejszenia ilości wirusowego DNA za pomocą techniki real-time PCR. Ponadto, z wykorzystaniem systemu xCELLigence, przeprowadzono ciągłą analizę stanu niezakażonych i zakażonych EHV-1 hodowli komórkowych w obecności leków przeciwwirusowych oraz bez nich.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki wskazują na to, że oba zastosowane w badaniach leki w określonych stężeniach, niepowodujących w hodowli komórkowej efektu cytotoksycznego, efektywnie hamują replikację EHV-1 w warunkach *in vitro*, zarówno w przypadku zastosowania szczepu terenowego Jan-E, jak i referencyjnego Rac-H. W linii komórkowej ED zarówno acyklowir, jak i cidofowir najefektywniej hamują replikację EHV-1 w stężeniu 128 µg/ml, natomiast w pierwotnej hodowli neuronów w stężeniu 8 µg/ml. Niektórzy badacze wskazują na to, iż poszczególne szczepy EHV-1 mogą wykazywać różną wrażliwość na cidofowir i z tego względu nie powinien on być stosowany w terapii [Garré i wsp., 2007]. W przeprowadzonych w Zakładzie Wirusologii badaniach nie zaobserwowano istotnych różnic we wrażliwości na zastosowane leki pomiędzy różnymi szczepami EHV-1. Jednakże, jako że zarówno acyklowir, jak i cidofowir wykazywały podobną aktywność przeciwwirusową w stosunku do EHV-1, a ponadto acyklowir wykazuje lepszą biodostępność, ewentualne stosowanie acyklowiru w terapii zakażeń powodowanych przez EHV-1 wydaje się bardziej uzasadnione.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cymerys J., Dzieciatkowski T., Słońska A., Bierla J., Tucholska A., Chmielewska A., Golke A., Bańbura M.W., 2010. Equine herpesvirus type 1 (EHV-1) replication in primary murine neurons culture. Pol. J. Vet. Sci., 13, 701–708.



## IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF NEURONS IN PORCINE LARYNGEAL GANGLIA

### IMMUNOHISTOCHEMICZNA CHARAKTERYSTYKA NEURONÓW ZWOJÓW KRATNIOWYCH ŚWINI

Jerzy Kaleczyc<sup>1</sup>, Monika Gulbinowicz-Gowkielewicz<sup>2</sup>, Magdalena Klimczuk<sup>1</sup>, Bogdan Kibiłda<sup>2</sup>, Waldemar Sienkiewicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Warmia and Mazury, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Anatomy, Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: jerzyk@uwm.edu.pl

<sup>2</sup>Voivodal Specialistic Hospital, Department of Otolaryngology and Laryngological Oncology, Żołnierska 18, 10-561 Olsztyn

It has been found that branches of the laryngeal nerves in some mammalian species are associated with several clusters of neurons. The present study was designed to investigate the chemical coding of nerve components in these intramural laryngeal ganglia of the pig.

**Material and methods:** The tissues under study were collected from 3 female immature pigs. After perfusion of the animals with buffered paraformaldehyde performed under pentobarbital anaesthesia, branches of the superior laryngeal nerve with their associated ganglia were collected and processed for double-labeling immunofluorescence to study the distribution of the nerve structures (visualized with antibodies against protein gene product 9.5) and their chemical coding using antibodies against ChAT, VACHT, DβH, NOS, VIP, GAL, SOM, SP and CGRP.

**Results and discussion:** Virtually all the neuronal somata were found to be cholinergic in nature (ChAT- or VACHT-positive). Many neurons contained also immunoreactivity for NOS (71%) or VIP (39%). Some neurons stained for NPY (6%) and solitary nerve cell bodies were GAL-positive. Nearly all the neuronal somata were closely apposed by numerous varicose VACHT-positive nerve fibres which often formed basket-like formations. Immunoreactivities to VIP, GAL, SOM, SP and CGRP were found in smaller numbers of intraganglionic, varicose nerve fibres. The present findings suggest that intramural laryngeal ganglia should be considered as a prominent source of cholinergic/peptidergic nerve supply to the porcine larynx, although the exact target structures for these neurons remain to be established.



## ROLA ADHEZYNY FIMH FIMBRII TYPU 1 W PATOGENEZIE ZAKAŻEŃ PAŁECZKAMI *SALMONELLA GALLINARUM*

### THE ROLE OF FIMH ADHESIN OF TYPE 1 FIMBRIAE IN PATHOGENICITY OF *SALMONELLA GALLINARUM*

Anna Kędzierska, Krzysztof Grzymajło, Maciej Ugorski

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biochemii, Farmakologii i Toksykologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: maciej.ugorski@up.wroc.pl

Pierwszym etapem zakażeń pałeczkami *Salmonella* jest ich adhezja do enterocytów i komórek M gospodarza, a jednym z najlepiej poznanych czynników odpowiedzialnych za ten proces są fimbrie typu 1. Głównym elementem odpowiedzialnym za te oddziaływania jest, znajdująca się na ich szczycie, adhezyna FimH, która wiąże się do „bogatych w mannozę” łańcuchów cukrowych glikoprotein obecnych na powierzchni tych komórek. Wyjątkiem są tutaj fimbrie typu 1 *Salmonella Gallinarum*, których adhezyna FimH niezdolna jest do mannozo-zależnego wiązania się do komórek eukariotycznych. Jednakże najnowsze badania wskazują na udział białka FimH w patogenezie zakażeń tymi pałeczkami, najprawdopodobniej poprzez ich wiązanie do innych, niż łańcuchy oligomannozowe, ligandów obecnych na powierzchni kurzych leukocytów.

W związku z powyższym, celem podjętych badań była analiza wiązania pałeczek *S. Gallinarum* do leukocytów wybranych gatunków ptaków i ssaków.

**Materiały i metody:** Materiał do badań stanowiły leukocyty izolowane z krwi obwodowej kur, kaczek, myszy, świń, krów, owiec oraz ludzi oraz następujące szczepy *Salmonella*: *S. Gallinarum*, izolat nr 589/02 – szczep dziki, *S. Gallinarum* FimH.SE – mutant szczepu dzikiego ekspresjonujący wariant białka FimH z *Salmonella* Enteritidis, *S. Gallinarum*: *fimH*::Kan – mutant szczepu dzikiego nie ekspresjonujący białka FimH, *S. Enteritidis*, izolat nr 327 – szczep dziki.

Wiązanie pałeczek *Salmonella* do leukocytów analizowano za pomocą testów adhezyjnych opartych na technice cELISA oraz liczenia bakterii związanych z leukocytami w mikroskopie świetlnym.

**Wyniki:** Jak wykazały przeprowadzone testy, dziki szczep *S. Gallinarum*, ekspresjonujący endogenną adhezynę FimH, wiązał się do leukocytów kurzych i ludzkich, a także wykazywał ograniczoną adhezję do leukocytów pozostałych gatunków. Co istotne, w przypadku leukocytów kurzych oddziaływanie bakterii z komórkami krwi nie było hamowane przez 0,2 M D-mannozę. Również, szczep *S. Gallinarum* ekspresjonujący białko FimH z *S. Enteritidis*, jak i dziki szczepu *S. Enteritidis* wiązały się na podobnym poziomie do leukocytów izolowanych z krwi obwodowej kur, kaczek, myszy, świń, krów, owiec i ludzi, jednak w każdym przypadku oddziaływanie to było hamowane przez 0,2 M D-mannozę. Natomiast szczep *S. Gallinarum* pozbawiony białka FimH praktycznie nie wiązał się do leukocytów pochodzących z wszystkich badanych gatunków.

**Omówienie:** Uzyskane wyniki potwierdzają i udowadniają, że uznawane długo za nieaktywne, fimbrie typu 1 *S. Gallinarum* odpowiedzialne są za adhezję tych pałeczek do leukocytów kurcząt, przy czym wiązanie to nie jest hamowane przez mannozę. Co z kolei sugeruje, że adhezyna FimH może odgrywać aktywną rolę w patogenezie zakażeń pałeczkami *S. Gallinarum*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Guo A., Cao S., Tu L., Chen P., Zhang C., Jia A., Yang W., Liu Z., Chen H., Schifferli D.M., 2009. FimH alleles direct preferential binding of *Salmonella* to distinct mammalian cells or to avian cells. *Microbiology*. 155, 1623–1633.
- [2] Kuzminska-Bajor M., Kuczkowski M., Grzymajło K., Wojciech L., Sabat M., Kisiela D., Wieliczko A., Ugorski M., 2012. Decreased colonization of chicks by *Salmonella enterica* serovar *Gallinarum* expressing mannose-sensitive FimH adhesin from *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*. *Vet Microbiol*.
- [3] Uzzau S., Brown D.J., Wallis T., Rubino S., Leori G., Bernard S., Casadesus J., Platt D.J., Olsen E., 2000. Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. *Epidemiol Infect.* 125, 229–255.



## BADANIA MAKROANATOMICZNE ZWOJU AORTOWO-NERKOWEGO U ŚWINI (*SUS SCROFA DOMESTICUS*) W OKRESIE OKOŁOPORODOWYM

### MACROANATOMICAL INVESTIGATION OF THE AORTICORENAL GANGLION IN DOMESTIC PIG (*SUS SCROFA DOMESTICUS*) IN PERINATAL PERIOD

Joanna Klećkowska-Nawrot<sup>1</sup>, Krzysztof Kujawa<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Anatomii Zwierząt, Katedra Biostruktury i Fizjologii Zwierząt, ul. Kozuchowska 1/3, 51-631 Wrocław, e-mail: lestat\_v@poczta.onet.pl, <sup>2</sup>Polska Akademia Nauk w Poznaniu, Instytut Środowiska Rolniczego i Leśnego, Bukowska 19, 60-809 Poznań, e-mail:krzysztof@kujawa.org.pl

Zwój aortowo-nerkowy (*ganglion aorticorenale*) jest jedną ze składowych splotu trzewnego (*plexus coeliacus*). Włókna nerwowe zwoju aortowo-nerkowego, splotu nerkowego, nerwu trzewnego mniejszego, a także splotu trzewnego zaopatrując współczulnie nerki odgrywają ważną rolę w przewodzeniu czucia bólu z nerki oraz w niektórych postaciach bezmoczności zależnego od odruchowego skurczu naczyń.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 14 płodach świni (4 płci męskiej i 10 płci żeńskiej) ze 110. dnia ciąży. Wiek płodów oznaczono na podstawie metody Marrable (1971) oraz opierając się na księgach hodowlanych. Badany materiał to mieszańce loch pbz x wp oraz wbp x pbz krytych knurami rasy duroc i hampshire ewentualnie ich mieszańców z rasą pietrain. W trakcie preparacji zastosowano 0,5-3% kwas octowy i 60-70% alkohol absolutny w celu lepszego uwidocznienia struktur anatomicznych. Użyto metod stosowanych w anatomii topograficznej: holotopii i skeletotopii. Opisano także kształt badanego zwoju oraz połączenia nerwowe. Pomiarów morfometrycznych zwoju (długość, szerokość oraz odległość zwoju od doogonowego końca nadnerczy) dokonano za pomocą suwmiarki elektronicznej z dokładnością do 0,01 mm. Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą testów: Mann-Whitney i Wilcoxon.

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone badania wykazały zmienne położenie zwoju aortowo-nerkowego u badanych osobników: przed tętnicą nerkową, za tętnicą nerkową, na ścianie aorty brzusznej, przed żyłą nerkową, na ścianie żyły nerkowej i pod żyłą główną doogonową. Zaobserwowano również obecność zwoju potrójnego i podwójnego u samic po lewej stronie ciała. Uwzględniając położenie zwoju w stosunku do pierśiowego i lędźwiowego odcinka kręgosłupa, to zwój ten położony był pomiędzy Th<sub>14</sub>-L<sub>5</sub> (Th<sub>14</sub>-L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>2</sub>-L<sub>3</sub>, L<sub>3</sub>, L<sub>3</sub>-L<sub>4</sub>, L<sub>3</sub>-L<sub>4</sub>-L<sub>5</sub>). Zaobserwowano dwa rodzaje kształtu zwoju: trójkątny i wydłużony. Zwój aortowo-nerkowy miał połączenie z następującymi nerwami i gałęziami nerwowymi: nerw trzewny większy, nerw trzewny mniejszy, nerwy trzewne lędźwiowe (poprzez zwoje lędźwiowe pnia sympatycznego), gałęzie nerkowe (biegnące do splotu nerkowego). Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie badanych zmiennych, uwzględniając płęć i stronę ciała osobników.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dyce, K.M., Sack W.O., Wensing C.J.G., 2010. Anatomia Weterynaryjna. Wrocław: Elsevier Urban&Partner, 345–346.
- [2] Klećkowska-Nawrot, J., Kaczyńska K., Jakubowska W., 2009. Macro anatomical investigation of the aorticorenal ganglion in one-day-old infant sheep. *Anat. Histol. Embryol.*, 38, 189–193.
- [3] Pospieszny N., 1977. The aorticorenal ganglion of sheep in the prenatal period. *Folia Morphol.* 4, 307–316.
- [4] Pospieszny N., Klećkowska J., 2002. Analiza morfologiczna zwoju aortowo-nerkowego (*ganglion aorticorenale*) u kotów rasy pers w okresie okołoporodowym. *Acta Sci. Pol.*, 1(2), 31–38.





## PROFIL TRANSKRYPTOMICZNY WĄTROBY SZCZURÓW PO 3 MIESIĄCACH STOSOWANIA DIETY SUPLEMENTOWANEJ

### TRANSCRIPTOMIC PROFILE OF THE LIVER IN RATS AFTER 3-MONTHS OF DIET SUPPLEMENTATION

Hanna Kosińska, Dariusz Kamola, Adam Prostek, Magdalena Łój, Jacek Wilczak, Michał Jank

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Fizjologii Zwierząt, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa, e-mail: hanna.kosinska@gmail.com

Wątroba jest jednym z najważniejszych narządów w organizmie człowieka, który pomaga w trawieniu i usuwa z krwi produkty przemiany materii. Do chorób wątroby należą takie schorzenia jak: stłuszczenie lub złoży tłuszczowe w wątrobie, zwłóknienia czy bliznowacenia wątroby, zapalenia wątroby typu B i C, marskość wątroby, gdzie blizny i rozpowszechnione zapalenie mogą przez nieodwracalnie zakłócić kształt lub funkcję wątroby, powodując trwałe uszkodzenie komórek i ostatecznie niewydolność, prowadzącą nawet do raka wątroby i śmierci. W krajach Europy Wschodniej i w Wielkiej Brytanii umieralność z powodu przewlekłych chorób wątroby wciąż rośnie. Ostatnie szacunki wskazują, że śmiertelność z powodu chorób wątroby może się dodatkowo podwoić w następnej dekadzie.

**Cel projektu:** Ocena wpływu długotrwałego łącznego stosowania mieszaniny wybranych suplementów diety na profil transkryptomiczny wątroby szczurów. Mając na uwadze fakt, że składniki biologicznie czynne znajdujące się w pokarmie mogą modyfikować ekspresję genów (działanie nutrigenomiczne), zaś wątroba jest głównym narządem odpowiedzialnym za metabolizm i eliminację wszelkich substancji o działaniu biologicznym, uzasadnione wydaje się ustalenie, czy stosowanie przez okres 3 miesięcy mieszaniny substancji biologicznie czynnych wykorzystywanych w powszechnie dostępnych suplementach pokarmowych będzie modyfikowało ekspresję genów w wątrobie szczurów.

**Materiał i metody:** Do eksperymentu wykorzystano szczury Sprague – Dawley. Zwierzęta (18 sztuk) zostały podzielone na dwie grupy badawcze: grupę kontrolną (9 zwierząt) oraz grupę suplementowaną (9 zwierząt), która otrzymywała mieszaninę suplementów przez okres 3 miesięcy. Dietę kontrolną stanowiła dieta półsyntetyczna opracowana według zaleceń dotyczących żywienia zwierząt laboratoryjnych i przygotowywana samodzielnie z półsurowców. Dieta suplementowana zawiera dodatek następujących związków biologicznie czynnych: puree z dyni gigant (*Curcubita macima*) jako źródło  $\beta$ -karotenu i substancji węglowodanowych o charakterze prebiotycznym, zhydrolizowany wodny ekstrakt z kwiatostanu lipy będący źródłem związków flawonoidowych, olej rzepakowy i tłuszcz z łososia będące źródłem kwasów n-3, DHA i EPA oraz dwa szczepy bakterii o udokumentowanych właściwościach probiotycznych: *Lactobacillus acidophilus* LA-5 i *Bifidobacterium Animals ssp. lactis*.

**Wyniki i omówienie:** Po okresie 3 miesięcy pobrano i wyizolowano RNA z wątroby szczurów i zbadano ekspresję genów przy użyciu mikromacierzy DNA. Wyniki wykazały istotnie statystycznie różnice pomiędzy grupą kontrolną a suplementowaną ( $p < 0,05$ ) w ekspresji 118 genów. Zidentyfikowane geny posiadają następujące funkcje molekularne: czynniki wiążące, aktywność katalityczną, aktywność receptorową, strukturalną aktywność cząsteczkową oraz aktywność kanałów jonowych. Wśród zidentyfikowanych genów znajdują się także geny LOXL2 i COL4A1, zaangażowane w regulację procesów zapalnych w wątrobie. Uzyskane wyniki sugerują wpływ 3-miesięcznego stosowania mieszaniny suplementów diety na regulację ekspresji genów w wątrobie szczurów.



## IDENTYFIKACJA FENOTYPOWA I GENOTYPOWA BAKTERII Z RODZINY *PASTEURELLACEAE* IZOLOWANYCH OD PSÓW I KOTÓW

### PHENOTYPIC AND GENOTYPIC IDENTIFICATION OF *PASTEURELLACEAE* STRAINS ISOLATED FROM DOGS AND CATS

Jarosław Król, Magdalena Florek, Zdzisław Staroniewicz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Patologii,  
Zakład Mikrobiologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: jaroslaw.krol@up.wroc.pl

Bakterie z rodziny *Pasteurellaceae* są Gram-ujemnymi pałeczkami zasiedlającymi błony śluzowe jamy ustnej, górnych dróg oddechowych oraz układu moczowo-płciowego u zwierząt [1]. Do najważniejszych przedstawicieli tej rodziny występujących u psów i kotów należą *Pasteurella multocida* (z podgatunkami *multocida* oraz *septica*), *P. dagmatis*, *P. canis*, *P. stomatis* oraz *Haemophilus haemoglobinophilus*. Drobnoustroje te są potencjalnymi patogenami dla swych gospodarzy, a ponadto mogą powodować zakażenia u człowieka, zwłaszcza w przypadku ran kłasnanych. Dlatego szybka i dokładna identyfikacja omawianej grupy bakterii ma duże znaczenie kliniczne i epidemiologiczne.

Tradycyjna diagnostyka rodziny *Pasteurellaceae* opiera się głównie na badaniach biochemicznych. Jest ona jednak dość pracochłonna i czasochłonna, a ponadto nie zawsze daje prawidłowe wyniki ze względu na dość duże zróżnicowanie cech fenotypowych wśród przedstawicieli rodziny *Pasteurellaceae*. Szybsza i bardziej dokładna jest identyfikacja genotypowa, szczególnie dzięki technikom sekwencjonowania różnych genów bakteryjnych, jest ona jednak bardziej kosztowna i często niemożliwa do przeprowadzenia w rutynowej pracowni mikrobiologicznej.

**Cel badań:** Opracowanie testów PCR służących do identyfikacji najważniejszych gatunków pałeczek z rodziny *Pasteurellaceae* występujących u psów i kotów.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 99 szczepach z rodziny *Pasteurellaceae* (w tym 8 szczepach kontrolnych i 91 izolatach terenowych). Izolaty te identyfikowano przy użyciu klasycznych prób biochemicznych [2], jak i za pomocą techniki sekwencjonowania genu 16S rRNA. Zaprojektowano startery gatunkowo-swoistych polimerazowych reakcji łańcuchowych, komplementarne do następujących fragmentów genów: *kmt* (dla *P. multocida*), *sodA* (dla *P. canis*, *P. stomatis* i *P. dagmatis*) oraz 16S rRNA (dla *H. haemoglobinophilus* i Bisgaard Taxon 16). Następnie startery te zostały zastosowane do identyfikacji szczepów kontrolnych i terenowych w serii testów mających na celu potwierdzenie swoistości reakcji oraz optymalizację warunków PCR.

**Wyniki i omówienie:** Opracowane testy PCR cechowały się wysoką swoistością, umożliwiając jednoznacznie identyfikację wszystkich badanych izolatów z rodziny *Pasteurellaceae*. Ogółem, wśród 91 szczepów terenowych, 35 zostało zakwalifikowanych jako *P. multocida*, 19 – Bisgaard Taxon 16, 16 – *P. dagmatis*, 10 – *P. canis*, 6 – *H. haemoglobinophilus* oraz 5 jako *P. stomatis*. Uzyskane wyniki pozwoliły na zaprojektowanie własnej procedury diagnostycznej, w której po wstępnej diagnostyce fenotypowej (m.in. za pomocą prób na ureazę i dekarboksylazę ornitynową) badane izolaty identyfikowane są za pomocą odpowiedniego testu PCR/multiplex PCR.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bisgaard M., 1993. Ecology and significance of Pasteurellaceae in animals. Zbl. Bakt., 279, 7–26.
- [2] Forsblom B., Sarkiala-Kessel E., Kanervo A., Väisänen M.-L., Helander M., Jousimies-Somer H., 2002. Characterisation of aerobic gram-negative bacteria from subgingival sites of dogs – potential bite wound pathogens. J. Med. Microbiol., 51, 207–220.



## WPŁYW RÓŻNYCH STĘŻEŃ KWASU KYNURENINOWEGO NA AKTYWNOŚĆ FAGOCYTARNĄ SPLENOCYTÓW ORAZ ODPOWIEDŹ PROLIFERACYJNĄ LIMFOCYTÓW MYSICH – BADANIA *IN VITRO*

### *IN VITRO* EFFECT OF DIFFERENT KYNURENIC ACID CONCENTRATIONS ON THE PHAGOCYTOTIC ACTIVITY OF SPLENOCYTES AND PROLIFERATIVE RESPONSE OF LYMPHOCYTES IN MICE

Joanna Małaczewska<sup>1</sup>, Andrzej K. Siwicki<sup>1</sup>, Roman Wójcik<sup>1</sup>, Andrzej Turski<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: j.malaczewska7@wp.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Wydział Lekarski z Oddziałem Anglojęzycznym, Katedra i Zakład Farmakologii Doświadczalnej i Klinicznej, ul. Jaczewskiego 8, 20-090 Lublin

Kwas kynureninowy (KYNA) jest metabolitem tryptofanu powstającym na szlaku kynureninowym, który poprzez różne produkty końcowe pełni istotne funkcje regulatorowe w systemie nerwowym i układzie immunologicznym. Właściwości immunotropowe samego KYNA wynikają z jego reakcji z receptorami GPR35, obecnymi na różnych typach komórek układu immunologicznego i polegają głównie na działaniu przeciwpalnym (hamowanie uwalniania cytokin prozapalnych), choć niektóre badania dowodzą również stymulującego wpływu kwasu na adhezję monocytów i neutrofilii. Działania takiego nie wykazują stężenia fizjologiczne KYNA (ok. 25 nM w plazmie), jednak w przebiegu stanów zapalnych następuje podniesienie jego poziomu do wartości mikromolowych. Z drugiej strony, pojawiają się również doniesienia o braku jakiegokolwiek wpływu KYNA na pewne funkcje układu immunologicznego, np. proliferację jednojądrzastych leukocytów krwi obwodowej człowieka czy przebieg odpowiedzi alergicznej u myszy.

**Cel pracy:** W związku z powyższym, podjęto badania mające na celu określenie wpływu różnych stężeń KYNA na aktywność fagocytarną splenocytów oraz odpowiedź proliferacyjną limfocytów mysich w warunkach *in vitro*.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 25 myszach Swiss. Zwierzęta poddane narkozie wziewnej z użyciem preparatu AErrane (Baxter, Polska) skrawiano metodą punkcji serca, pobierając następnie śledziony do dalszych badań. Splenocyty i leukocyty krwi obwodowej izolowano przez wirowanie w gradiencie Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich). Wyizolowane komórki poddawano hodowli w podłożu RPMI-1640 w obecności wzrastających stężeń kwasu kynureninowego (6,25  $\mu$ M-10 m) przez 24 godziny (komórki adherentne) lub 72 godz. (komórki nieadherentne). Aktywność metaboliczną fagocytów oznaczano spektrofotometrycznie w testach RBA (nasilenie wybuchu tlenowego po stymulacji PMA) i PKA (aktywność bójcza w stosunku do *Staphylococcus aureus*), zaś aktywność proliferacyjną limfocytów stymulowanych mitogenami (ConA i LPS) oceniano spektrofotometrycznym testem redukcji MTT.

**Wyniki i omówienie:** Żadne z użytych stężeń kwasu kynureninowego nie wpływało znacząco na aktywność fagocytarną splenocytów. Natomiast, zależny od wysokości stężenia efekt działania KYNA na limfocyty był różny, w zależności od pochodzenia komórek. W przypadku limfocytów izolowanych ze śledziony obserwowano obniżenie aktywności proliferacyjnej komórek pod wpływem wysokich stężeń KYNA (limfocyty T: 2,5–10 mM, limfocyty B: 5-10 mM), zaś w przypadku komórek izolowanych z krwi – stymulację proliferacji przy niskich stężeniach kwasu (komórki T: 0,5  $\mu$ M, komórki B: 6,25  $\mu$ M–0,25 mM). W związku z niejednoznacznością uzyskanych wyników konieczne wydaje się przeprowadzenie dalszych badań, w różnych układach doświadczalnych, mających na celu określenie optymalnych warunków oddziaływania KYNA na komórki immunokompetentne.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Barth M.C., Ahluwalia N., Anderson T.J.T., Hardy G.J., Sinha S., Alvarez-Cardona J.A., Pruitt I.E., Rhee E.P., Colvin R.A., Gerszten R.E., 2009. Kynurenin acid triggers firm arrest of leukocytes to vascular endothelium under flow conditions, *The Journal of Biological Chemistry*, 284, 19189–19195.

Praca finansowana z grantu NCN NN 308578540.



## BADANIA MORFOLOGICZNE WĘDZIDEŁKA JĘZYKA U WYBRANYCH GATUNKÓW SSAKÓW

## MORPHOLOGICAL STUDY OF LINGUAL FRENULUM IN SELECTED SPECIES OF MAMMALS

Stanisław Nitek<sup>1</sup>, Michał Skibniewski<sup>2</sup>, Bartłomiej J. Bartyzel<sup>2</sup>, Andrzej Max<sup>3</sup>, Julian Komornicki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Warszawski Uniwersytet Medyczny, Zakład Anatomii Prawidłowej i Klinicznej  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>2</sup>Katedra Nauk  
Morfologicznych, <sup>3</sup>Katedra Chorób Małych Zwierząt z Kliniką

Wada anatomiczna w postaci krótkiego wędzidełka języka (*ankyloglossia*) zaliczana jest do zaburzeń rozwojowych, których częstość występowania u człowieka szacuje się na około 2,8–10%. Najczęściej pojawia się ona rodzinnie, powodując zaburzenia ssania. W późniejszym wieku utrudnia artykulację niektórych głosek. Stosunkowo rzadko wada ta jest opisywana u zwierząt. W światowym piśmiennictwie występuje zaledwie kilka pozycji poświęconych ankyloglosji u psów. Większość dotyczy osobników rasy owczarek anatolijski [1]. Podobnie jak u ludzi powoduje ona problemy ze ssaniem oraz występuje u osobników blisko spokrewnionych. Dodatkowe problemy, z jakimi wiąże się skrócone wędzidełko języka u zwierząt mięsożernych, to utrudniona termoregulacja oraz zaburzenia połykania. Przyczyna powstawania wyżej wymienionej wady pozostaje nieznana. Przypuszcza się, że może ją wywoływać mutacja genu lub ekspozycja na czynniki teratogenne [2].

**Cel pracy:** Analiza porównawcza morfologii wędzidełka języka człowieka oraz wybranych gatunków ssaków, tj. psa domowego i kota domowego.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono u 17 dzieci, 20 kotów europejskich oraz 20 psów różnych ras. W przypadku dzieci oględziny i pomiary wędzidełek wykonano podczas badania laryngologicznego. U zwierząt przeprowadzono je na osobnikach poddanych znieczuleniu ogólnemu przed rutynowymi zabiegami operacyjnymi. W każdym przypadku dokonano oględzin wędzidełka języka, pomiarów jego długości, określono lokalizację przyczepu oraz wykonano dokumentację fotograficzną.

**Wyniki i omówienie:** W dostępnym piśmiennictwie napotkano na klasyfikację czterech typów wędzidełka języka u człowieka. Uwzględnia ona długość oraz miejsca przyczepu wspomnianej struktury. U badanych dzieci wszystkie wędzidełka reprezentowały typ o prawidłowej długości umożliwiający właściwą ruchomość języka. W przypadku psów również wszystkie badane wędzidełka zakwalifikowano do typu o prawidłowej długości. U jednego spośród badanych kotów (samiec w wieku około 8 miesięcy) wystąpiła ankyloglosja. Zaburzeniu nie towarzyszyły inne wady anatomiczne w obrębie głowy. W dostępnym piśmiennictwie poświęconym zwierzętom spotkano dwa podstawowe typy skróconego wędzidełka, tj. całkowita i częściowa ankyloglosja [3]. Analizowany osobnik reprezentował drugi z wymienionych typów. Autorzy pracy przypuszczają, że częstość występowania wyżej wymienionej wady u zwierząt jest wyższa niż podawana w piśmiennictwie. Nie jest ona jednak rozpoznawana, ponieważ większość dotkniętych nią osobników ginie w okresie postnatalnym z powodu trudności ze ssaniem.

### Piśmiennictwo:

- [1] Grundmann S., Hoffmann A., 2006. Ankyloglossia in an Anatolian Shepherd dog, *Schweiz Arch. Tierheilkd*, 148:8, 417–20.
- [2] Temizsoyly M.D., Avki S., 2003. Complete ventral ankyloglossia in three related dogs, *J Am Vet Med Assoc*, 223:10, 1443–1445.
- [3] Karahan S., Kul B.C., 2009. Ankyloglossia in dogs: a morphological and immunohistochemical study. *Anat. Histol. Embryol.*, 38:2, 118–121.



**TRICHOPHYTON VERRUCOSUM – EPIDEMIOLOGIA MOLEKULARNA****TRICHOPHYTON VERRUCOSUM – MOLECULAR EPIDEMIOLOGY****Aneta Nowakiewicz, Grażyna Ziółkowska**

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin, anowakiewicz@gmail.com

Grzyby należące do gatunku *Trichophyton verrucosum* stanowią główną przyczynę wysoce zakaźnych zaraźliwych grzybic powierzchniowych występujących u bydła. Charakterystyczna makro- i mikromorfologia grzyba oraz specyficzne objawy kliniczne u zwierząt nie nastręczają trudności diagnostycznych, jednakże w dostępnej literaturze niewiele istnieje informacji dotyczących zróżnicowania w obrębie samego gatunku.

**Cel badań:** Określenie stopnia zróżnicowania szczepów należących do gatunku *Trichophyton verrucosum*, ze szczególnym uwzględnieniem źródła pochodzenia.

**Materiał i metody:** Badaniem objęto 18 szczepów *Trichophyton verrucosum*, izolowanych od krów pochodzących z różnych regionów Polski. Przynależność gatunkową badanych szczepów potwierdzono w odniesieniu do szczepu referencyjnego (CBS) na podstawie cech makro- i mikromorfologicznych oraz identycznego wzorca molekularnego uzyskanego w wyniku trawienia amplifikowanego regionu, kodującego ITS1-5,8S-ITS2, enzymem MvaI [1]. Ten sam amplikon poddano również analizie restrykcyjnej przy udziale następujących enzymów: Sau3AI, Hind III, EcoRI oraz HhaI. Metodą RAPD przeprowadzono dalszą analizę z udziałem startera OPT20.

**Wyniki i omówienie:** Mimo pochodzenia badanych szczepów z różnych terenów Polski izolaty wykazały niemal identyczny profil. Zarówno szczepy terenowe, jak i szczep referencyjny prezentowały produkt amplifikacji jednakowej wielkości (680pz), który w wyniku trawienia poszczególnymi enzymami uzyskiwał identyczny wzór dla wszystkich szczepów: Sau3AI-300, 200, 150 i 30pz, EcoRI-380 i 300pz, HhaI-200, 160, 150, 80, 60,30, enzym HindIII nie rozpoznał specyficznego miejsca trawienia. Wyniki reakcji RAPD również były niemal jednakowe, niewielkie różnice wykazane przy zastosowaniu UPGMA (współczynnik Dice powyżej 0,53) pozwoliły na wyodrębnienie dwu grup: pierwsza z nich obejmowała identyczne szczepy, druga (wraz ze szczepem referencyjnym) zawierała izolaty o wysokim stopniu podobieństwa. Uzyskane wyniki pozwalają wstępnie sądzić, że gatunek *Trichophyton verrucosum* jest raczej homogeny, należałoby jednak potwierdzić tę hipotezę, wprowadzając bardziej precyzyjne techniki molekularne, ponieważ PCR-RFLP oraz RAPD (OPT20) wykazują stosunkowo niski potencjał dyskryminacyjny w obrębie gatunku *Trichophyton verrucosum*.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Kanbe T., 2008. Molecular approaches in the diagnosis of dermatophytosis. Mycopathologia, 166, 307–317.
- [2] Mirzahoseini H., Omidinia E., Shams-Ghahfarokhi M. et al., 2009. Application of PCR-RFLP to rapid identification of the main pathogenic dermatophytes from clinical specimens. Iranian J. Publ. Health., 38, 18–24.





## WPŁYW WISFATYNY NA CZYNNOSĆ KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA NACZYNIOWEGO W PRZEBIEGU HIPERGLIKEMII

### THE INFLUENCE OF VISFATIN ON ENDOTHELIAL CELLS FUNCTION DURING HYPERGLYCEMIA

Ewa Ocloń, Jakub Siudut, Joanna Zubel, Krystyna Pierzchała-Koziec

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Fizjologii i Endokrynologii Zwierząt, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków, e-mail: e.oclon@ur.krakow.pl

Nieprawidłowa funkcja komórek śródbłonka naczyniowego jest podstawowym zaburzeniem w przebiegu licznych schorzeń układu krążenia. W prognozowaniu i/lub diagnozowaniu chorób sercowo-naczyniowych kluczowym parametrem jest ocena stanu fizjologicznego komórek śródbłonkowych naczyń tętniczych. Obecnie poszukiwane są obiektywne i jednocześnie specyficzne wskaźniki biochemicznych do oceny endotelium. W tym kontekście szczególną uwagę zwrócono na wisfatynę, adipokinę o plejotropowym działaniu.

**Cel pracy:** było określenie stopnia syntezy i sekrecji wisfatyny w komórkach śródbłonka naczyniowego oraz ocena wpływu tej adipokiny na aktywność endotelium w przebiegu hiperглиkemii.

**Materiał i metody:** Hodowlę komórek śródbłonka aorty przeprowadzono w warunkach hiperглиkemii (22,2 mmol/l) w obecności wisfatyny o różnym stężeniu (0,1 nM, 1 nM). Hodowlę kontrolną stanowiły komórki, w których podłożu stężenie glukozy wynosiło 5,5 mmol/l. Eksperymenty przeprowadzono na komórkach z czwartego pasażu w dwukrotnych powtórzeniach. Po zakończonej hodowli izolowano RNA z komórek i oznaczono poziom mRNA dla wisfatyny techniką Q-PCR. W celu określenia stopnia sekrecji adipokiny oznaczono jej stężenie w medium po hodowli. Ponadto, za pomocą testu błękitu alamariny (Alamar Blue) analizowano wpływ adipokiny na proliferację komórek śródbłonka.

**Wyniki i omówienie:** Wykazano, że w warunkach hiperглиkemii istotnie wzrastają zarówno sekrecja, jak i synteza wisfatyny w komórkach śródbłonka naczyniowego ( $p < 0,01$ ). Dodatek wisfatyny o stężeniu 1nM do komórek hodowanych w warunkach hiperглиkemicznych spowodował wzrost ich proliferacji o 31,2% w porównaniu z grupą kontrolną ( $p < 0,05$ ). Otrzymane wyniki potwierdziły zmianę aktywności adipokiny w endotelium, zależną od stanu fizjologicznego. Ponadto wykazano, że w warunkach hiperглиkemii wisfatyna stymuluje podziały komórek śródbłonka aorty. W doświadczeniach przeprowadzonych na myszach udowodniono hipoglykemizujące działanie wisfatyny [1], co w połączeniu z jej dodatnim wpływem na proliferację komórek śródbłonkowych sugeruje udział tej adipokiny w regulacji czynności badanych komórek.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Wang P, Vanhoutte P.M., Miao C.Y., 2012. Visfatin and cardio-cerebro-vascular disease, Journal Cardiovascular Pharmacology, 59,1–9.

Praca finansowana w ramach grantu NR12006406 i NN 311227138.



## CHARAKTERYSTYKA PORÓWNAWCZA MORFOLOGII JAJOWODÓW ŻUBRA I BYDŁA DOMOWEGO

### COMPARATIVE MORPHOLOGY OF UTERINE TUBES IN EUROPEAN BISON AND DOMESTIC CATTLE

Katarzyna Olbrych, Tomasz Szara

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Morfologicznych e-mail: tomasz\_szara@sggw.pl

**Cel pracy:** Dokonanie opisu budowy makroskopowej i mikroskopowej jajowodów żubra wraz z analizą morfometryczną oraz porównanie uzyskanych wyników z dostępnymi danymi dotyczącymi bydła domowego.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły wyizolowane narządy płciowe żeńskie pozyskane od 55 samic żubra nizinnego *Bison bonasus bonasus L.*, z hodowli rezerwatowej i wolno żyjącej populacji żubrów w Puszczy Białowieskiej. Zwierzęta pochodziły z odstrzałów selekcyjnych. Wstępną ocenę i pomiary makroskopowe jajowodów wykonywano bezpośrednio po śmierci osobników. Zwierzęta były ważone z dokładnością do 1 kg. Do badań histologicznych pobrano jajowody w całości. Próbki utrwalono w buforowanym 5% wodnym roztworze formaldehydu, następnie zostały one zatopione w bloczki parafinowe, które za pomocą mikrotomu rotacyjnego krojono na kolejne skrawki o grubości 10 µm. W następnym etapie barwiono je metodą przeglądową HE – hematoksylina i eozyna. Na tak przygotowanym materiale wykonano pomiary mikroskopowe. Mierzono następujące parametry: średnica światła, wysokość nabłonka błony śluzowej i grubość błony mięśniowej oraz błony surowiczej jajowodów. Uzyskane wyniki porównano z dostępnymi w literaturze danymi dotyczącymi bydła.

**Wyniki i omówienie:** Analiza statystyczna wymiarów liniowych jajowodów wykazała, że u żubrów są one krótsze i grubsze niż u bydła. U dorosłych samic długość prawego jajowodu wynosiła średnio 18,14 cm a lewego 19,96. Według Bielańskiego wymiar ten w przypadku dorosłych krów waha się w przedziale 20–28 cm. Największe różnice występują u osobników dojrzałych. Jajowody żubra ma też bardziej prosty przebieg, wykazując duże zróżnicowanie osobnicze zarówno u młodych, jak i u dojrzałych samic. Budowa histologiczna omawianych narządów jest podobna u obu gatunków zwierząt. Błona śluzowa jajowodów żubrzych, podobnie jak ma to miejsce w przypadku samic bydła domowego, zmienia się w zależności od fazy cyklu.

Stwierdzono, że parametry makroskopowe jajowodów istotnie dodatnio korelują z masą ciała zarówno u młodych zwierząt, jak i u samic dojrzałych. Długość obu jajowodów oraz ich średnica w sposób istotny korelują z wiekiem. Spośród parametrów mikroskopowych jedynie grubość błony śluzowej jest słabo związana z wiekiem, natomiast wysokość komórek nie zmienia się. Nie stwierdzono również związku grubości błony mięśniowej z tym parametrem.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bielański W., 1977. Rozród zwierząt. PWRiL, Warszawa,
- [2] Jaczewski Z., 1958. Reproduction in the European bison, *Bison bonasus L.*, in reserves. Acta Theriol., 1, 333–376.
- [3] Kobryń H., 2006. Anatomy of European bison, [in:] Kita J., Anusz K. (edit.) Health threats for the European bison particularly in free-roaming populations in Poland. The SGGW Publishers, Warszawa
- [4] Krasińska M., Krasiński Z., 2007. European bison. The nature monograph. Mammal Research Institute, Białowieża.
- [5] Krasiński Z., Raczyński J., 1967. The reproduction biology of European bison living in reserves and freedom. Acta Theriol., 12, 407–444.
- [6] Olbrych K., 2008. Morphology of the European bison ovaries in relation to female age. European Bison Conservation Newsletter, 1, 34–41.



## CHARAKTERYSTYKA MOLEKULARNA REFERENCYJNYCH SZCZEPÓW WIRUSA WŚCIEKLIZNY

### MOLECULAR CHARACTERISATION OF RABIES VIRUS REFERENCE STRAINS

Anna Orłowska, Marcin Smreczak, Paweł Trębas, Jan Franciszek Żmudziński

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy,  
e-mail: anna.orłowska@piwet.pulawy.pl

Wirus powodujący wściekliznę należy do rzędu *Mononegavirales*, rodziny *Rhabdoviridae*, rodzaju *Lyssavirus*. Genom wirusa stanowi jednoniciowy, niesegmentowany kwas rybonukleinowy (RNA) o ujemnej polarności, zawierający 5 genów kodujących od końca 3' do 5' pięć białek strukturalnych: nukleoproteinę (N), fosfoproteinę (P), białko matrix (M), glikoproteinę (G) i RNA zależną polimerazę RNA (L). Sekwencja aminokwasowa nukleoproteiny jest najbardziej konserwatywną spośród wszystkich białek wirusa wścieklizny, co czyni to białko przydatnym w diagnostyce wścieklizny oraz badaniach epidemiologicznych i epizootiologicznych. Glikoproteina wirusa wścieklizny (białko G) jest białkiem błonowym i głównym białkiem zdolnym do indukcji przeciwciał neutralizujących wirus wścieklizny.

Wirus wścieklizny po raz pierwszy został użyty jako szczepionka w 1885 r. przez Ludwika Pasteura (szczep PV). Do produkcji szczepionek doustnych przeciwko wściekliznie wykorzystuje się szczepy wywodzące się od szczepu SAD (Street Alabama Dufferin) wyizolowanego w 1935 r. od psa w Ameryce Północnej. Szczepionki parenteralne przeciwko wściekliznie oparte są na szczepach P-M, Flury HEP oraz Flury LEP.

**Cel pracy:** Charakterystyka molekularna szczepów referencyjnych wirusa wścieklizny w obrębie dwóch fragmentów genów kodujących nukleoproteinę i glikoproteinę.

**Materiał i metody:** Do badań użyto szczepów referencyjnych wirusa wścieklizny zakupione w laboratorium referencyjnym WHO (Instytut Pasteura, Paryż, Francja). Materiał stanowiły homogenaty mózgowi myszy inokulowanych uprzednio szczepami: PV (Pasteur virus), CVS (Challenge Virus Strain), P-M (Pitman-More), SAD B19, SAD Tübingen, SAD Potsdam, SAD Vnukovo 32 oraz 2 liofilizaty szczepów Flury HEP i Flury Lep. Z homogenatów mózgowi myszy izolowano RNA, które następnie poddano reakcjom RT-PCR. Amplikony fragmentów genów kodujących nukleoproteinę i glikoproteinę poddano sekwencjonowaniu. Uzyskane sekwencje po złożeniu w kontygi przepisano na sekwencje aminokwasowe i zestawiono w postaci Multiple Sequence Alignment. Analizę filogenetyczną przeprowadzono z wykorzystaniem programu Mega 4.1. Stopień identyczności sekwencji obliczono za pomocą programu BioEdit v. 7.0.

**Wyniki i omówienie:** Analiza sekwencji fragmentu genu nukleoproteiny wykazała podobieństwo pomiędzy szczepami referencyjnymi na poziomie 86,8–100%. Stopień identyczności sekwencji nukleotydowych fragmentu genu G wynosił 90,4–100%. Porównanie wydedukowanych sekwencji aminokwasowych referencyjnych szczepów wirusa wścieklizny wykazało obecność kilku zmian o charakterze synonimicznym w sekwencjach nukleotydowych genów N i G, wobec czego podobieństwo pomiędzy szczepami na poziomie łańcuchów aminokwasowych było wyższe 95,3–100 (białko N) oraz 93,1–100% (białko G). W obrębie łańcucha białkowego nukleoproteiny stwierdzono, że szczepy SAD najbardziej podobne są do szczepu PV, a największe zmiany wykazują w porównaniu ze szczepami CVS, PM, Flury LEP i Flury HEP (16–18 zmian). Analiza filogenetyczna przeprowadzona dla łańcuchów aminokwasowych białka G wykazała najwyższe podobieństwo szczepów SAD ze szczepem PV. W pozycji 137 aa (333 aa w łańcuchu białka G szczepu PV, Acc. No M13215) szczepy referencyjne wirusa wścieklizny, z wyjątkiem szczepu Flury HEP, zawierały argininę (R) uznawaną jako aminokwas odpowiedzialny za właściwości patogenne wirusa wścieklizny. Szczep Flury HEP w tym miejscu posiadał glutaminę. Wszystkie analizowane szczepy SAD na drzewie filogenetycznym utworzonym dla białek N i G utworzyły wspólny kład.



## WPŁYW OLEJU LNIANKOWEGO NA PARAMETRY DENSYTOMETRYCZNE I TOMOGRAFICZNE KOŚCI SZCZURÓW PŁCI ŻEŃSKIEJ W WARUNKACH ELIMINACJI FUNKCJI HORMONALNEJ GONAD

### THE EFFECT OF FALSE FLAX OIL ON DENSITOMETRIC AND TOMOGRAPHIC PARAMETERS OF BONES IN FEMALE RATS AFTER ELIMINATION OF HORMONAL FUNCTION OF GONADS

Iwona Puzio, Dorota Graboś, Małgorzata Kapica, Marek Bieńko, Radosław P. Radzki

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Fizjologii Zwierząt, Akademicka 12, 20-033, Lublin, iwona.puzio@up.lublin.pl

**Cel badań:** Poznanie wpływu oleju lniankowego (uzyskiwanego z Lnianki siewnej, *Camelina sativa*) jako źródła nienasyconych kwasów tłuszczowych, na właściwości tkanki kostnej samic szczurów w warunkach chirurgicznej eliminacji funkcji hormonalnej gonad.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzone zostały na szczurach szczepu Wistar płci żeńskiej o początkowej masie ciała ok. 200–220 g. Zwierzęta podzielono na grupę, u której przeprowadzono zabieg obustronnej owariektomii, OVX (n=24) oraz grupę operowaną rzekomo, SHO (n=8). Po 7 dniach rekonwalescencji samice OVX podzielono na grupę OVXPhs, otrzymującą przez okres 6 tygodni codziennie dożołądkowo płyn fizjologiczny (1 ml) oraz grupy doświadczalne otrzymujące codziennie dożołądkowo olej lniankowy w ilości 5 g/kg m.c./dobę (OVX5CS) lub 9 g/kg m.c./dobę (OVX9CS). Samice SHO otrzymywały codziennie dożołądkowo płyn fizjologiczny (1 ml). Po 6 tygodniach doświadczenia zwierzęta zważono i poddano eutanazji. Następnie przy użyciu densytometru Norland Excell Plus i oprogramowania do badania małych zwierząt oceniono całkowitą zawartość mineralną (tBMC) i całkowitą gęstość mineralną (tBMD) kośćca oraz BMD i BMC wyizolowanych kości udowych i ramiennych. Z wykorzystaniem obwodowego ilościowego tomografu komputerowego Stratec XCT Research SA Plus w części środkowej trzonu kości udowych określono następujące parametry: całkowitą zawartość mineralną kości (TOT\_CNT), całkowitą gęstość mineralną kości (TOT\_DEN), zawartość mineralną kości zbitej (CRT\_CNT), wolometryczną gęstość mineralną kości zbitej (CRT\_DEN), powierzchnię kości zbitej (CRT\_A) oraz całkowitą powierzchnię kości (TOT\_A). Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

**Wyniki i omówienie:** Po 6 tygodniach doświadczenia największą masą ciała cechowały się zwierzęta otrzymujące olej lniankowy, przy czym istotnie statystycznie różnice stwierdzono pomiędzy grupami OVX5CS i OVX9CS a grupą SHO. Największe wartości tBMC wykazano w grupie OVX9CS, a najmniejsze w grupie OVXPhs. Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w wartościach tBMC i tBMD między grupami poddanymi owariektomii otrzymującymi olej lniankowy a grupą SHO. Najwyższe wartości BMD izolowanych kości stwierdzono w grupie OVX9CS (0,096 g/cm<sup>2</sup> kość udowa i 0,073g/cm<sup>2</sup> kość ramienna). W przypadku BMC najwyższymi wartościami cechowały się kości udowe i ramienne grupy OVX9CS (0,34±0,001g i 0,16±0,01 g), a najniższymi grupy OVXPhs (0,31±0,009 g i 0,15±0,07 g). Analiza parametrów tomograficznych wykazała wzrost wartości TOT\_CNT w grupach otrzymujących olej lniankowy w porównaniu z grupą OVXPhs i SHO. Podobną charakterystykę zmian zaobserwowano w przypadku TOT\_DEN, gdzie wyższymi wartościami charakteryzowały się grupy OVX5CS (842 mg/cm<sup>3</sup>) i OVX9CS (812 mg/cm<sup>3</sup>). Najniższe wartości tego parametru zaobserwowano w grupie OVXPhs (787 mg/cm<sup>3</sup>). U zwierząt otrzymujących olej lniankowy stwierdzono również wyższe niż w grupach SHO i OVXPhs wartości CRT\_CNT, CRT\_A oraz TOT\_A. Istotnych różnic między grupami nie zaobserwowano jedynie w odniesieniu do CRT\_DEN. Uzyskane wyniki wskazują, iż w warunkach rozwijającej się osteopenii, indukowanej obustronną owariektomią, olej lniankowy bogaty w nienasycone kwasy tłuszczowe wykazuje wpływ osteoprotekcyjny, co wskazuje na możliwość jego wykorzystania np. w profilaktyce osteoporozy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Sun D., Krishnan A., Zaman K., Lawrence R., Bhattacharya A., Fernandes G., 2003. Dietary n-3 fatty acids decrease osteoclastogenesis and loss of bone mass in ovariectomized rats. *J. Bone Min. Res.*, 18, 1206–1216.



## IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISATION OF CAMG NEURONS SUPPLYING THE OVINE HIP JOINT CAPSULE

### IMMUNOHISTOCHEMICZNE WŁAŚCIWOŚCI NEURONÓW ZWOJU KREZKOWEGO TYLNEGO ZAOPATRUJĄCYCH TOREBKĘ STRAWU BIODROWEGO OWCY

Waldemar Sienkiewicz<sup>1</sup>, Agnieszka Dudek<sup>1</sup>, Aleksander Chrószcz<sup>2</sup>, Jerzy Kaleczyc<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Animal Anatomy, Olsztyn, e-mail: sienio@uwm.edu.pl

<sup>2</sup>Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Division of Animal Anatomy, Wrocław

Until now the localisation of neurons supplying the hip joint capsule has been investigated in the rat and rabbit, but these studies have regarded primary sensory neurons, so the present contribution is the first attempt to localise and reveal immunohistochemical features of sympathetic neurons innervating the hip joint capsule in the sheep.

**Material and methods:** The study was carried out on 5 sexually mature sheep of both sexes, weighing around 50 kg each. The animals were housed and treated in accordance with the rules approved by the local Ethics Commission (affiliated to the National Ethics Commission for Animal Experimentation, Polish Ministry of Science and Higher Education). All the sheep were deeply anesthetized and injected with 20 $\mu$ l of 5% water suspension of a retrograde tracer-Fast blue (FB) into the lateral side of the right hip joint capsule. After a survival period of 5 weeks, the animals were reanesthetized and transcardially perfused with 4% buffered paraformaldehyde. The caudal mesenteric ganglia (CaMG-s) were collected and processed for further investigations. The preparations were examined under a fluorescent microscope equipped with filter block for Fast Blue.

**Results and discussion:** FB+ neurons were found within ipsilateral CaMG-s. They were round or oval in shape with a diameter from 20 to 30  $\mu$ m. The neurons were evenly distributed throughout the ganglia. The average number of FB+ neurons was  $136 \pm 4$  (mean  $\pm$  SEM) per animal. Sections containing FB+ neurones were processed for double-immunofluorescence method using antisera against D $\beta$ H, VACHT, NPY, VIP, Met-ENK, Gal, SP and CGRP. Preparations were studied with a confocal microscope (Zeiss LSM 700). It was found that FB+ neurons stained mainly for D $\beta$ H and NPY but also for Gal. No other substances studied were determined within the FB+ perikarya whereas numerous VACHT-, SP-, CGRP and Met-ENK-positive nerve fibres were observed in a close vicinity to the FB+ neurons.





## UDZIAŁ MIKROTUBUL I NEUROFILAMENTÓW W REPLIKACJI KOŃSKIEGO HEPESWIRUSA TYPU 1 (EHV-1) W PIERWOTNEJ HODOWLI MYSICH NEURONÓW *IN VITRO*

### INVOLVEMENT OF MICROTUBULES AND NEUROFILAMENTS IN EQUID HERPESVIRUS TYPE 1 (EHV-1) REPLICATION IN PRIMARY MURINE NEURONS *IN VITRO*

Anna Słoińska<sup>1</sup>, Joanna Cymerys<sup>1</sup>, Michał M. Godlewski<sup>2</sup>, Anna Golke<sup>1</sup>, Anna Tucholska<sup>1</sup>,  
Anna Chmielewska<sup>1</sup>, Marcin W. Bańbura<sup>1</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Nauk Przedklinicznych, Zakład Wirusologii, ul. Ciszewskiego 8, 02-768 Warszawa, <sup>2</sup>Katedra Nauk Fizjologicznych, Zakład Fizjologii, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: anex007@op.pl

Jednym z mechanizmów uszkadzającego wpływu końskiego herpeswirusa typu 1 (EHV-1, *Equid herpesvirus type 1*) na komórkę jest jego wpływ na cytoskielet, który odgrywa szczególną rolę podczas zakażenia, biorąc między innymi udział w wewnątrzkomórkowym transporcie wirionów lub ich części składowych. Ze względu na swe rozpowszechnienie i patogenność EHV-1 od dawna stanowi istotny problem w praktyce weterynaryjnej, powodując zakażenia układu oddechowego, zaburzenia neurologiczne oraz poronienia u ciężarnych klaczy. Dane dotyczące udziału cytoskieletu w zakażeniu EHV-1 są niezwykle skromne i odnoszą się jedynie do wpływu na cytoskielet komórek linii Vero i komórek linii ED [2]. Zbadanie zatem udziału poszczególnych elementów cytoskieletu w przebiegu produktywnego zakażenia neuronów znacznie poszerza znajomość mechanizmów patogenyzy zakażenia na poziomie komórkowym i wnosi istotny wkład w ogólny stan wiedzy dotyczącej neurotropizmu EHV-1 jako przedstawiciela  $\alpha$ -herpeswirusów.

**Cel badań:** Określenie wpływu zakażenia różnymi szczepami – terenowym i referencyjnym – EHV-1 na strukturę mikrotubul i neurofilamentów pierwotnej hodowli mysich neuronów.

**Materiały i metody:** Płody myszy szczepu Balb/c (H-2d), genetycznie wrażliwych na zakażenie EHV-1, służyły do wyprowadzania pierwotnej hodowli neuronów [1]. Hodowle zakażano dwoma szczepami EHV-1: terenowym Jan-E i referencyjnym Rac-H, następnie inkubowano 24 h, utrwalono i wybarwiano na obecność antygeny wirusowego, mikrotubul, neurofilamentów i jąder komórkowych. Obserwacji preparatów dokonywano w mikroskopie konfokalnym (FV-10i, Olympus) przy użyciu programu FluoView, zaś pomiar intensywności fluorescencji poszczególnych elementów cytoskieletu wykonano przy użyciu cytometru skaningowego Scan<sup>^</sup>R (Olympus).

**Wyniki i omówienie:** W hodowli neuronów zakażonej szczepem Jan-E w znacznej części komórek nie zaobserwowano zmian w strukturze mikrotubul, aczkolwiek wykrywano również takie komórki, których mikrotubule zostały całkowicie zniszczone i widoczne były jako skondensowane wokół jąder komórkowych agregaty  $\beta$ -tubuliny, z wyraźną kolokalizacją antygeny wirusowego. W komórkach zakażonych szczepem Rac-H struktura mikrotubul nie została zmieniona, obserwowano natomiast obecność antygeny wirusowego rozmieszczonego wzdłuż włókien  $\beta$ -tubuliny na dendrytach. Żaden z badanych szczepów EHV-1 nie wpłynął na strukturę neurofilamentów pierwotnej hodowli mysich neuronów. Na podstawie obserwacji mikroskopowych, jak również wyników analizy ilościowej można przypuszczać, że w neuronach zakażonych EHV-1 mikrotubule odpowiadają za transport aksonalny dwukierunkowy pomiędzy perikarionem a zakończeniem aksonu, zaś różnice w oddziaływaniu EHV-1 na komórki nerwowe są zależne od szczepu wirusa i stopnia jego adaptacji do hodowli komórkowych *in vitro*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Cymerys J., Dzieciatkowski T., Słoińska A., Bierła J., Tucholska A., Chmielewska A., Golke A., Bańbura M.W., 2010. Equine herpesvirus type 1 (EHV-1) replication in primary murine neurons culture. Pol. J. Vet. Sci., 13, 701–708.
- [2] Walter I., Nowotny N., 1999. Equine herpes virus type 1 (EHV-1) infection induces alterations in the cytoskeleton of Vero cells but not apoptosis. Arch. Virol. 144, 1827–1836.



## PRZYDATNOŚĆ BADAŃ HISTOPATOLOGICZNYCH W DIAGNOSTYCE I OCENIE ZMIAN NARZĄDOWYCH W INWAZJI PRZYWR (*TREMATODA*) I FORM LARWALNYCH TASIEMCÓW (*CESTODA*) U ZWIERZĄT I LUDZI

### USEFULNESS OF HISTOPATHOLOGICAL EXAMINATION IN DIAGNOSIS AND APPRAISAL OF CHANGES IN THE INTERNAL ORGANS DURING FLUKES INVASION (*TREMATODA*) AND LARVAL TAPEWORM (*CESTODA*) IN ANIMALS AND HUMANS

Zenon Sołtysiak<sup>1</sup>, Jerzy Rokicki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Parazytologii w Katedrze Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: zenon.soltysiak@up.wroc.pl,

<sup>2</sup>Uniwersytet Gdański, Katedra Zoologii Bezkręgowców Gdynia, Al. Piłsudskiego 46, e-mail: rokicki@univ.gda.pl

Badania histopatologiczne odgrywają ważną rolę w diagnostyce chorób ludzi i zwierząt o różnej etiologii, lecz szczególnie w diagnostyce chorób nowotworowych.

**Cel badań:** Stwierdzenie roli badań histopatologicznych w diagnostyce pasożytniczej u zwierząt u ludzi i wykazanie charakteru zmian patologicznych w przebiegu inwazji pasożytniczej.

**Materiał i metody:** Do badań histopatologicznych pobrano wycinki wątroby krowy i królika, ściany pęcherza moczowego i bioptat wątroby człowieka, w których wykazano jaja, formy larwalne przywr lub tasiemców. Materiały utrwalono w 8% formalinie. Preparaty histopatologiczne barwiono hematoksyliną Delafielda i eozyną (H-E).

**Wyniki i omówienie:** Dorosłe motylce *Fasciola hepatica* bytują w przewodach żółciowych. Młode przywry odbywają wędrówkę przez miąższ wątrobowy do kanałów żółciowych. W trakcie wędrówki młodych form przez miąższ wątrobowy stwierdza się świeże wylewy krwi, a z biegiem czasu zmiany ulegają włóknieniu.

Jaja przywry *Schistosoma haematobium* z rodziny *Schistosomatidae* mają na powierzchni kolce, za pomocą których przebijają ścianę pęcherza moczowego, aby dostać się do światła pęcherza. Jaja przywry *Schistosoma mansoni* przebijają się przez ścianę jelita grubego do światła przewodu pokarmowego. Często jednak zanoszone są prądem krwi do różnych narządów, np. wątroby powodując tworzenie się ziarnin, a w konsekwencji ogniska marskości okołozylnej wątroby.

Dorosłe tasiemce *Taenia pisiformis* występują w jelicie cienkim zwierząt mięsożernych. Larwy tego tasiemca odbywają wędrówkę przez miąższ wątrobowy do sieci i krezki jelitowej gdzie tworzą pęcherzykowate wągrzy zawierające skoleksy (*cysticercus pisiformis*). W trakcie wędrówki przez miąższ wątrobowy u królików stwierdza się przekroje larw z obwodowym naciekiem zapalnym złożonym z eozynofili i komórek olbrzymich typu ciał obcych. W przekrojach wągrza oprócz tegumentu można wykazać obecność haków. Z biegiem czasu zmiany ulegną włóknieniu.

Dorosłe tasiemce *Echinococcus multilocularis* stwierdza się najczęściej w jelicie cienkim lisa rudego. Larwy tasiemca umiejscawiają się w mięszu wątroby, płuc i mózgu gryzoni, przypadkowo mogą trafić także do ludzi. Wokół formy larwalnej zjawia się nacieki zapalny z licznymi eozynofilami oraz ogniska martwicy i ogniskowe zwapnienie. Wykazanie haków larwy tasiemca decyduje o rozpoznaniu.

**Wnioski:** Badania histopatologiczne w diagnostyce i ocenie zmian narządowych w inwazji przywr (*Trematoda*) i form larwalnych tasiemców (*Cestoda*) są przydatne ponieważ: 1) ujawniają na przekroju pasożyty w tkankach; 2) określają rodzaj zmian tkankowych w sąsiedztwie larw; 3) pozwalają oszacować rozległość uszkodzeń spowodowanych przez wędrujące formy larwalne oraz dojrzałe pasożyty w miejscu ich bytowania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Mehlhorn H., 2001. Encyclopedic Reference of Parasitology (Biology, Structure, Function) Mehlhorn H. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York.
- [2] Taylor M.A., Coop R.L., Wall R.L., 2007. Veterinary Parasitology, Blackwell Publishing, third edition.
- [3] Jones T.C., Hunt R.D., King N.W., 1997. Veterinary Pathology, six edition.



## ZASTOSOWANIE BADAŃ HISTOPATOLOGICZNYCH W DIAGNOSTYCE I OCENIE ZMIAN PATOLOGICZNYCH W INWAZJI NICIENI PŁUCNYCH U ZWIERZĄT

### APPLICATION OF HISTOPATHOLOGICAL RESEARCH IN DIAGNOSIS AND APPRAISAL OF PATHOLOGICAL CHANGES DURING LUNGS NEMATODE INVASION IN ANIMALS

Zenon Sołtysiak<sup>1</sup>, Jerzy Rokicki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Parazytologii w Katedrze Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: zenon.soltysiak@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Gdański, Katedra Zoologii Bezkręgowców, Gdynia, Al. Piłsudskiego 46, e-mail: rokicki@univ.gda.pl

Badania histopatologiczne odgrywają ważną rolę w diagnostyce chorób bakteryjnych, wirusowych, grzybiczych, prionowych i nowotworowych ludzi oraz zwierząt.

**Cel badań:** Wykazanie przydatności badań histopatologicznych w rozpoznaniu inwazji pasożytniczej i ocenie zmian patologicznych w przebiegu inwazji nicieniami płucnymi z rodziny *Protostrongylidae* oraz z rodzaju *Metastrongylus*.

**Materiał i metody:** Wycinki płuc pobrano od kozy w wieku 3 miesięcy i dwóch dzików w wieku 3 lat. Wycinki tkanki płucnej utrwalono w 8% formalinie. Preparaty histopatologiczne barwiono hematoksyliną Delafielda i eozyną (H-E).

**Wyniki i omówienie:** Guzy łęgowe i guzy robaczce w przebiegu inwazji nicieni z rodziny *Protostrongylidae* łatwo zdiagnozować w trakcie sekcji kóz. Guzki łęgowe przedstawiały się jako ogniska zrazikowego zapalenia płuc. Ogniska te zlewały się w większe obszary, były barwy szaro-zielonej, otoczone rozedmowymi pęcherzykami. W świetle pęcherzyków obserwowano przekroje jaj i larw nicieni. W trakcie wędrówek larw nicieni przez mięsz płucny do oskrzeli czy pęcherzyków płucnych powodują zmiany urazowe z rozwojem procesu zapalnego wyrażonego naciekami komórek zapalnych z dominującymi eozynofilami. Mechaniczne uszkodzenia płuc goją się przez proces bliznowacenia z powstaniem łącznotkankowych blizn (włóknienie płuc). W mięszu płuc stwierdza się również drobne ogniska martwicze, które ulegają wapnieniu.

Obecność dojrzałych nicieni z rodzaju *Metastrongylus* u dzików odnotowano w drobnych oskrzelach i oskrzelikach. Ruchliwość nicieni i wydzielane antygeny, ich wydaliny oraz obecność jaj powodowały przewlekłe zapalenie oskrzeli i oskrzelików z głównym udziałem eozynofilii. Wskutek wędrówki larw nicieni z rodzaju *Metastrongylus* przez mięsz płucny wykazano nieżytowe zapalenie płuc, a wtórna ropna infekcja była powodowana przez gronkowce (*Staphylococcus*).

**Wnioski:** Badania histopatologiczne są przydatne ponieważ: 1) wykrywają inwazję larw w tkankach i nicieni dojrzałych w miejscu bytowania; 2) określają rodzaj zmian patologicznych i obszar uszkodzeń w tkankach powodowanych przez wędrujące formy larwalne; 3) rozległość uszkodzeń powodowanych przez dojrzałe pasożyty w miejscu ich bytowania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Mehlhorn H., 2001. Encyclopedic Reference of Parasitology (Biology, Structure, Function), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York.
- [2] Taylor M.A., R.L Coop R.L., Wall R.L., 2007. Veterinary Parasitology, Blackwell Publishing, third edition.
- [3] Jones T.C., Hunt R.D., King N.W., 1997. Veterinary Pathology, six edition.
- [4] McGavin M.D., Carlton W.W., Zachary J.F., 2001. Thomson's Special Veterinary Pathology, Mosby A Harcourt Health Sciences Company, St. Louis.
- [5] Mc. Donald Mc Gavin., Zachary J.F., 2007. Pathologic basis of Veterinary disease, fourth edition, Mosby Elsevier.



## WEWNĄTRZKOMÓRKOWA DYSTRYBUCJA PODJEDNOSTKI P65 CZYNNIKA TRANSKRYPCYJNEGO NF- $\kappa$ B W KOMÓRKACH L929 ZAKAŻONYCH WIRUSEM EKTROMELII

### INTRACELLULAR DISTRIBUTION OF P65 SUBUNIT OF NF- $\kappa$ B TRANSCRIPTION FACTOR IN ECTROMELIA VIRUS-INFECTED L929 CELLS

Justyna Struzik, Lidia Szulc, Marek Niemiałtowski

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Przedklinicznych, Zakład Immunologii, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, email: justyna\_struzik@sggw.pl

Patogeny z rodziny *Poxviridae*, takie jak np. należący do rodzaju *Orthopoxvirus* wirus ektromelii (ECTV), znane są z właściwości immunomodulacyjnych, które umożliwiają im uniknięcie mechanizmów obronnych zakażonego organizmu. Jednym z komórkowych celów dla pokswirusów jest NF- $\kappa$ B, plejotropowy czynnik transkrypcyjny uczestniczący m.in. w regulacji transkrypcji genów kodujących białka biorące udział w odpowiedzi antywirusowej. Aktywacja tego czynnika prowadzi do jego translokacji z cytoplazmy do jądra komórkowego, gdzie reguluje on transkrypcję odpowiednich genów [2].

**Cel badań:** Analiza lokalizacji podjednostki p65 NF- $\kappa$ B w komórkach permissywnych linii L929 zakażonych szczepem Moscow ECTV (ECTV-MOS), co umożliwiło ocenę aktywacji badanego czynnika transkrypcyjnego.

**Materiał i metody:** Do doświadczeń wykorzystano wysoce zakaźny szczep Moscow wirusa ektromelii (ECTV-MOS, ATCC VR-1374) i wywodzące się od myszy szczepu C3H/An (haplotyp H-2<sup>k</sup>) komórki linii L929 (ATCC CCL-1), które zakażano wirusem w dawce M.O.I. = 5. Po upływie 4, 8 i 18 godz. po zakażeniu komórki utrwalano 4% roztworem paraformaldehydu (PFA, Sigma) i barwiono następujące antygeny: p65 przy użyciu króliczych przeciwciał monoklonalnych anti-p65 (Cell Signaling Technology) i oślich antykróliczych przeciwciał drugorzędowych znakowanych Rodaminą Red-X (Jackson ImmunoResearch) oraz ECTV-MOS z wykorzystaniem króliczych przeciwciał poliklonalnych (pAb) anti-ECTV-MOS skoniugowanych z FITC (wykonanie własne). Następnie znakowano DNA barwnikiem Hoechst 33342 (Calbiochem). Preparaty mikroskopowe analizowano przy użyciu mikroskopu fluorescencyjnego Olympus BX60 wyposażonego w kamerę Color View III i oprogramowanie Cell<sup>^</sup>F.

**Wyniki i omówienie:** Analiza immunofluorescencyjna wykazała, iż w analizowanych punktach czasowych (4, 8 i 18 g.p.z.), białko p65 nie ulega translokacji do jądra komórkowego, co świadczy o tym, iż zakażenie ECTV-MOS nie indukuje aktywacji NF- $\kappa$ B zarówno we wczesnym, jak i późnym stadium zakażenia. Ponadto zaobserwowano występowanie obszarów kolokalizacji antygen(ów) wirusa z białkiem podjednostki p65 NF- $\kappa$ B, co wskazuje na oddziaływanie ECTV-MOS z badanym czynnikiem transkrypcyjnym. Dane literaturowe sugerują, iż ortopokswirusy, w tym wirus krowianki (vaccinia virus, VACV), modyfikują odpowiedź komórki na zakażenie poprzez hamowanie aktywacji NF- $\kappa$ B zarówno na wczesnym, jak i późnym etapie zakażenia [1, 3]. Uzyskane wyniki sugerują, iż ECTV-MOS zaburza szlaki sygnałowe komórki prowadzące do aktywacji NF- $\kappa$ B podczas cyklu replikacyjnego wirusa, co może wpływać na przykład na syntezę cytokin prozapalnych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Fagan-Garcia K., Barry M., 2011. A vaccinia virus deletion mutant reveals the presence of additional inhibitors of NF- $\kappa$ B, *Journal of Virology*, 85:2, 883–894.
- [2] Mohamed M. R. & McFadden G., 2009. NF $\kappa$ B inhibitors: strategies from poxviruses, *Cell Cycle*, 8:19, 3125–3132.
- [3] Oie K.L., Pickup D.J., 2001. Cowpox virus and other members of the orthopoxvirus genus interfere with the regulation of NF- $\kappa$ B activation, *Virology*, 288:1, 175–187.

Badania finansowane z grantu promotorskiego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego N N308 573740 (dla MN) oraz z grantu wewnętrznego SGGW 505 10 0234 0050 (dla JS).





## TELOMERY I AKTYWNOŚĆ TELOMERAZY U ZWIERZĄT ZAKAŻONYCH WIRUSEM BIAŁACZKI BYDŁA (BLV)

### TELOMERE AND TELOMERASE ACTIVITY IN CATTLE INFECTED WITH BOVINE LEUKEMIA VIRUS (BLV)

**Maria Szczotka, Jacek Kuźmak, Ewelina Iwan, Marzena Rola-Łuszczak**

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Biochemii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: [szczotka@piwet.pulawy.pl](mailto:szczotka@piwet.pulawy.pl)

Telomery są wyspecjalizowanymi strukturami nukleoproteinowymi występującymi na końcach eukariotycznych chromosomów. Zabezpieczają DNA przed rearanżacjami, które mogą powodować niestabilność genomu i zmiany w kariotypie. Chronią chromosomy przed zmianą struktury i ich fuzją z innymi chromosomami. Telomeraza jako enzym o charakterze odwrotnej transkryptazy zabezpiecza końce chromosomów przed ich nadmiernym skracaniem się w trakcie podziałów komórkowych z uwagi na zdolność do syntezy telomerów oraz stabilizuje ich strukturę. Aktywna telomeraza występuje w prawidłowych komórkach w czasie rozwoju embrionalnego oraz w komórkach rozrodczych i macierzystych i aktywność jej obniża się po urodzeniu. Prawidłowe komórki pozbawione są aktywności telomerazy, ale jej obecność stwierdzana jest w nowotworach i białaczkach u ludzi.

**Cel badań:** Ocena aktywności telomerazy i długości telomerów u bydła zakażonego wirusem białaczki (BLV).

**Materiał i metody:** Przeprowadzono badanie aktywności telomerazy w próbach krwi, szpiku, śledziony i węzłów chłonnych bydła zakażonego BLV oraz bydła zdrowego, u którego testem ELISA nie stwierdzono obecności przeciwciał oraz prowirusowego DNA dla BLV. Badano także jej aktywność w ludzkich nowotworowych liniach komórkowych: HeLa, 1301, Jurkat oraz bydłowej ciągłej linii ciągłej FLK-BLV. Z pobranych od zwierząt próbek generowano komórki dendrytyczne i hodowano *in vitro*. Komórki poddawano homogenizacji, zamrażaniu i rozmrażaniu, wirowano i uzyskany przesącz komórek zamrażano w  $-20^{\circ}\text{C}$ . Koncentrację telomerazy w przesączu homogenizowanych komórek oraz w płynie z hodowli komórkowej określano testem ELISA, przy użyciu zestawu ELISA Kit for Telomerase (Uscn Life Science Inc. Wuhan). Wykonano także badania w kierunku oceny aktywności telomerazy w ww. materiale przy użyciu zastawu Telo TAGGG PCR Elisa Plus (Roche). Sporządzono preparaty histologiczne z narządów do określenia lokalizacji telomerazy w badaniach immunohistochemicznych. Długość telomerów badano w cytometrze przepływowym oraz metodą hybrydyzacji *in situ* przy użyciu sondy fluorescencyjnej (FISH). Obecność glikoproteiny gp51-BLV w komórkach dendrytycznych wykrywano testem immunofluorescencji (IF) i metodą cytometrii przepływowej. Prowirusowy DNA wykrywano metodą nested-PCR oraz PCR *in situ*.

**Wyniki i omówienie:** Wykazano bardzo wysoką aktywność telomerazy w lizatach komórek linii FLK-BLV (RTA=114,69) oraz komórek ludzkich linii nowotworowych HeLa i 1301 (RTA=109,12 i 109,24, odpowiednio), a także w supernatantach z hodowli tych komórek *in vitro*. Wysoką aktywność telomerazy stwierdzono w limfocytach krów z wysoką limfocytozą (RTA=72,0) oraz u owcy z chłoniakiem, po eksperymentalnym zakażeniu BLV (RTA=72,58). Stwierdzono wyższą aktywność telomerazy w komórkach śledziony białaczkowych zwierząt, natomiast w komórkach węzłów chłonnych i szpiku była ona znacznie niższa. Wykazano obecność aktywnej telomerazy w surowicy płodowej cielęcej, ale koncentracja tego enzymu była znacznie niższa niż w materiale pochodzącym od zakażonych zwierząt. Nie stwierdzono aktywności telomerazy w próbkach zdrowych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] El-Daly H., Kull M., Zimmermann S., Waller C., Martens U., 2005. Selective cytotoxicity and telomere damage in leukemia cells using the telomerase inhibitor BIBR 1532. *Blood*, 105, 1742–1749.
- [2] Shay J.W., Wright W.E., 2002. Telomerase: a target for cancer therapeutics. *Cancer Cell*, 2, 257–265.





## WPŁYW ZAKAŻENIA WIRUSEM ENZOOTYCZNEJ BIAŁACZKI BYDŁA (BLV) NA IMMUNOFENOTYP I MORFOLOGIĘ KOMÓREK PREZENTUJĄCYCH ANTYGEN (APC)

### INFLUENCE OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS (BLV) INFECTION ON IMMUNOPHENOTYPE AND MORPHOLOGY OF ANTIGEN PRESENTING CELLS (APC)

**Maria Szczotka, Jacek Kuźmak, Ewelina Iwan, Magdalena Materniak**

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Biochemii, Al. Partyzantów 57,  
24-100 Puławy, e-mail: [szczotka@piwet.pulawy.pl](mailto:szczotka@piwet.pulawy.pl)

Wirus białaczki bydła (BLV) jest czynnikiem etiologicznym enzootycznej białaczki bydła, choroby nowotworowej, w przebiegu której obserwuje się zmiany proliferacyjne w układzie limfo-retikularnym. Komórki dendrytyczne należą do grupy komórek prezentujących antygen, które posiadają zdolność do wychwytywania i przetwarzania antygenów we krwi obwodowej i w tkankach. Po kontakcie z antygenem migrują do okolicznych węzłów chłonnych i prezentują go spoczynkowym limfocytom.

**Cel badań:** Ocena immunofenotypu oraz morfologii komórek dendrytycznych bydła zdrowego, bydła zakażonego BLV oraz ww. komórek zakażanych BLV w warunkach *in vitro*.

**Materiał i metody:** Materiałem do badań była krew i narządy limfatyczne: szpik kostny, węzły chłonne i śledziona, z których generowano komórki dendrytyczne. Izolację komórek CD14+ prowadzono przy użyciu mikrogranulek magnetycznych, opłaszczonych przeciwciałem monoklonalnym CD14. Pozytywną selekcję komórek wykonano na sorterze magnetycznym MACS. Izolowane komórki hodowano *in vitro* w płynie wzrostowym z dodatkiem IL-4 oraz GM-CSF. Immunofenotyp komórek dendrytycznych oraz ekspresję glikoproteiny gp51 wirusa badano metodą cytometrii przepływowej. Obecność gp51 w komórkach badano testem immunofluorescencji (IF). Morfologię komórek analizowano w mikroskopie świetlnym oraz elektronowym mikroskopie skaningowym. Testem ELISA badano ekspresję interleukin: IL-6, IL-10, IL-12p40 oraz IL-12p70 w hodowli komórek dendrytycznych.

**Wyniki i omówienie:** W komórkach dendrytycznych izolowanych od zwierząt zakażonych BLV stwierdzono bardzo wysoką ekspresję markerów CD14, CD11a, CD11b, CD11c oraz MHC-I. Komórki generowane od zdrowych krów, poddane zakażeniu wirusem *in vitro*, charakteryzowały się obecnością determinant CD11a, CD11b oraz MHC-II.

Wykazano różnice w morfologii oraz dynamice wzrostu komórek dendrytycznych generowanych z krwi i narządów zwierząt zakażonych BLV oraz zdrowych. Cytoplazma komórek zakażonych posiadała siateczkowatą strukturę oraz liczne ziarnistości i wakuole, natomiast cytoplazma komórek nie zakażonych była zwarta i nie stwierdzano w niej ziarnistości. Obecność glikoproteiny gp51 w komórkach dendrytycznych wykazano metodą cytometrii przepływowej oraz IF po 7 dniach po zakażeniu *in vitro*. Wykazano znacznie wyższą ekspresję interleukin: IL-6, IL-10, IL-12p40 oraz IL12p70 w hodowli komórek dendrytycznych zakażonych BLV w porównaniu z hodowlą komórek dendrytycznych zdrowych zwierząt.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Banchereau J., Steinman R.M., 2000. Immunology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol*, 18, 767–811.
- [2] Wilson N., El-Sukkari D., Belz G., 2003. Most lymphoid organ dendritic cell types are phenotypically and functionally immature. *Blood*, 102, 2187–2194.



## PRZECIWDZIAŁANIE SKUTKOM NIEWYDOLNOŚCI ZEWNĄTRZYDZIELNICZEJ TRZUSTKI PRZEZ SUPLEMENTACJĘ DIETY ENZYMAMI MIKROBIOLOGICZNYMI – BADANIA NA MODELOWYCH ŚWINIACH DOŚWIADCZALNYCH

### COUNTERACTION AGAINST EXOCRINE PANCREATIC INSUFFICIENCY RELATED DISORDERS BY MICROBIAL ENZYME DIET SUPPLEMENTATION-STUDIES ON EXPERIMENTAL PIG MODEL

Szwiec Katarzyna<sup>1,3</sup>, Jose Luis Valverde Piedra<sup>1</sup>, Paulina Świeboda<sup>2,3</sup>, Rafał Filip<sup>2</sup>, Stefan Pierzynowski<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt

<sup>2</sup>Instytut Medycyny Wsi im. Witolda Chodźki w Lublinie

<sup>3</sup>Wydział Biologii, Uniwersytet w Lund, e-mail: katarzyna.szwiec@biol.lu.se

Skuteczną metodą przeciwdziałania skutkom niewydolności zewnątrzwydzielniczej trzustki (NZT) jest podawanie brakujących enzymów trawiennych pochodzenia zwierzęcego [1]. Obecnie trwają badania nad zastosowaniem enzymów mikrobiologicznych w NZT u dzieci z mukowiscydozą. Jednak w dostępnym piśmiennictwie brak jest danych na temat aktywności enzymów w przewodzie pokarmowym w warunkach NZT.

**Cel pracy:** Badanie aktywności egzogennych enzymów mikrobiologicznych (EM) w jelicie cienkim świń z NZT oraz określenie ich skuteczności w przywracaniu funkcji trawiennych przewodu pokarmowego.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 6 świnich (10,9±0,4 kg) z podwiązaniem przewodem trzustkowym [2] oraz na 3 kontrolnych. Zwierzętom obu grup wszyto katetery do dwunastnicy i jelita biodrowego [3] oraz do żyły szyjnej zewnętrznej [4]. Po miesiącu od zabiegu pobrano próbki krwi, kału i treści przewodu pokarmowego do badań. Następnie przez 3 tygodnie dietę zwierząt z NZT suplementowano EM. W osoczu krwi oznaczono stężenie triglicerydów (TG), a w próbkach treści pokarmowej aktywność amylazy, lipazy i proteazy. W kale badano zawartość tłuszczu i azotu do określenia współczynnika wykorzystania białka (WWB) oraz tłuszczu (WWT).

**Wyniki i omówienie:** U świń z NZT aktywność enzymów trawiennych była niska w stosunku do ich aktywności u zwierząt kontrolnych (amylaza – 6,87±1,8 U/ml i 162,7±12,0 U/ml, lipaza – 96,8±46,2 U/ml i 507,3±22,1 U/ml i proteazy – 13,0±5,7U/ml i 357,6±57,3 U/ml). Po podaniu EM aktywność enzymatyczna w treści dwunastnicy świń z NZT istotnie wzrosła (amylaza-54,7±18,6 U/ml, p<0,05; lipaza – 421,6±78,3 µ/ml p<0,05 i proteazy – 40,3±18,9 U/ml, p<0,01). Jednocześnie zaobserwowano wzrost WWB (z 60,2±4,1 do 69,6±9,9%, p<0,01) i WWT (z 64,2±26,9 do 78,3±10,0%, p<0,01), wzrost stężenia TG w osoczu po 2 godzinach po posiłku (z 0,41±0,22 do 0,93±0,41 mmol/l, p<0,01) oraz wzrost masy ciała u zwierząt z NZT (z 12,2±1,7 kg do 15,1±2,2 kg, p<0,05).

Zwierzęta z NZT charakteryzuje zahamowanie wzrostu na skutek niedożywienia wynikającej z niemożliwości pełnego trawienia pokarmu. Wyniki dokumentują, że użyte w badaniach EM są aktywne w przewodzie pokarmowym i skutecznie hydrolizują substraty. EM usprawniają procesy trawienia, zwiększając tym samym wykorzystanie pokarmu w przewodzie pokarmowym i stymulują wzrost świń z modelową NZT.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kuhn R.J. i wsp., 2010. CREON (Pancrelipase Delayed-Release Capsules) for the treatment of exocrine pancreatic insufficiency, *Adv. Ther.*
- [2] Abello J. i wsp., 1989. Total pancreatic insufficiency in pigs: A model to study intestinal enzymes and plasma levels of digestive hormones after pancreatic supplementation by a whole pancreas preparation, *Pancreas*, 4, 556–564.
- [3] Pierzynowski S.G. i wsp., 1990. Development of exocrine pancreas function in chronically cannulated pigs during 1-13 weeks of postnatal life, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 10, 206–212.
- [4] Goldstein R. M. i wsp., 1985. The effects of total parenteral nutrition on gastrointestinal growth and development, *J. Pediatr. Surg.*, 20, 785–791.



## WPŁYW DOŻOŁĄDKOWEGO PODAWANIA APELINY NA STRUKTURĘ JELITA CIENKIEGO U SZCZURÓW

### THE EFFECT OF INTRAGASTRIC ADMINISTRATION OF APELIN ON THE SMALL INTESTINE STRUCTURE IN THE RAT

Sylwia E. Szymańczyk, Jose L. Valverde Piedra, Małgorzata Kapica, Iwona Puzio

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Biochemii i Fizjologii Zwierząt, ul. Akademicka 12, 20-950 Lublin, e-mail: sylwia.szymanczyk@up.lublin.pl

Apelina jest jednym z niedawno odkrytych hormonów, który stanowi endogenny ligand receptora APJ ściśle związanego z angiotensyno-podobnym receptorem 1 (AGTRL1). Najbardziej poznane działanie apeliny dotyczy głównie układu sercowo-naczyniowego i wewnątrzwydzielniczego. Apelina jest produkowana w wielu narządach organizmu, w tym w sercu, mózgu, płucach, tkance tłuszczowej oraz w przewodzie pokarmowym [1]. Badania na szczurach sugerują, że apelina odgrywa również ważną rolę w rozwoju i regulacji funkcji przewodu pokarmowego. Zarówno apelina-36, jak i apelina-13 stymulują proliferację komórek błony śluzowej przewodu pokarmowego. Wykazano, że w warunkach hodowli komórkowej apelina stymuluje komórki enteroendokrynne linii STC-1 do uwalniania CCK [2]. Badania na szczurach wykazały, że apelina może wpływać na wydzielanie soku trzustkowego i żółci przez mechanizmy lokalne [3].

**Cel pracy:** Określenie wpływu egzogennej apeliny na strukturę błony śluzowej jelita cienkiego oraz wątroby u szczurów.

**Materiał i metody:** Badanie przeprowadzono na 3-tygodniowych szczurach szczepu Wistar obu płci utrzymywanych w standardowych warunkach chowu laboratoryjnego z dostępem do wody i paszy *ad libitum*. Zwierzęta podzielono na grupę doświadczalną (n=6), która otrzymywała dożołądkowo apelinę-13 (Phoenix Pharmaceuticals, INC, cat. no 057-18) w dawce 50 nmol/kg masy ciała/dobę przez 2 tygodnie, natomiast zwierzęta grupy kontrolnej (n=6) otrzymywały 0,5 ml płynu fizjologicznego. Masa ciała szczurów mierzona była przed i po doświadczeniu. Po 2 tygodniach zwierzęta poddano eutanazji i pobrano skrawki jelita oraz wątroby, które utrwalono i poddano standardowej procedurze histologicznej. Skrawki parafinowe grubości 4 µm barwiono hematoksyliną i eozyną, a następnie wykonano zdjęcia przy użyciu mikroskopu świetlnego Zeiss wyposażonego w kamerę axiocamERc5s. Mierzono grubość błony śluzowej, długość kosmków, głębokość krypt i grubość błony mięśniowej poszczególnych odcinków jelita cienkiego, a także wielkość hepatocytów przy użyciu programu *MicroImage v.4*.

**Wyniki:** Masa ciała szczurów po okresie doświadczenia nie wykazywała różnic między grupami. Stwierdzono tendencję do wyższych wartości grubości błony śluzowej oraz długości kosmków w dwunastnicy i początkowej części jelita czczego u szczurów, którym podawano dożołądkowo apelinę-13, natomiast środkowa i dystalna część jelita czczego wykazywała odwrotną tendencję. Pogłębienie krypt zaobserwowano u szczurów otrzymujących apelinę jedynie w części końcowej jelita czczego oraz w jelicie biodrowym, jednak różnice te nie były istotne statystycznie. Stwierdzono również tendencję do zwiększenia powierzchni komórek wątrobowych u szczurów poddanych działaniu apeliny-13, w porównaniu z kontrolą bez wpływu na średnią masę wątroby.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Tatemoto K., Hosoya M., Habata Y., Fujii R., Kakegawa T., Zou M.X. et al., 1998. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem Biophys Res Commun.*, 251,471–6.
- [2] Wang G., Anini Y., Wei W., Qi X., O'carroll A., Mochizuki T., Wang H., Hellmich M.R., Englander E.W., Greeley G., Apelin J.R., 2004. A New Enteric Peptide, Localization in the gastrointestinal Tract, Ontogeny, and Stimulation of Gastric Cell Proliferation and of Cholecystokinin Secretion, *Endocrinology*, 145,1342–1348.
- [3] Kapica M., Jankowska A., Antushevich H., Pietrzak P., Bierla J.B., Dembinski A., Zabielski R., 2012. The effect of exogenous apelin on the secretion of pancreatic juice in anaesthetized rats. *J. Physiol. Pharmacol.*, 63, 53–60.



## WYBRANE ELEMENTY ODPORNOŚCI NATURALNEJ U KRÓLIKÓW ZAKAŻONYCH EKSPERYMENTALNIE RÓŻNYMI SZCZEPAMI WIRUSA RHD (RABBIT HAEMORRHAGIC DISEASE)

### CHOSEN ELEMENTS OF NATURAL IMMUNITY IN RABBITS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH DIFFERENT STRAINS OF RHD (RABBIT HAEMORRHAGIC DISEASE) VIRUS

**Tokarz-Deptuła Beata, Alicja Trzeciak-Ryczek, Paulina Niedźwiedzka-Rystwej,  
Beata Hukowska-Szematowicz, Joanna Działo, Wiesław Deptuła**

*Uniwersytet Szczeciński, Wydział Biologii, Katedra Mikrobiologii i Katedra Immunologii, ul. Felczaka 3a,  
71-412 Szczecin, e-mail: kurp13@univ.szczecin.pl*

Układ odpornościowy (UO) funkcjonuje głównie poprzez reakcje związane z elementami tworzącymi odporność naturalną i nabytą. Znaczenie odporności naturalnej w zakażeniach wirusowych ssaków było zwykle traktowane jako element mało istotny. Ostatnie lata badań w zakresie funkcjonowania UO poczyniły znaczący postęp. Do tych badań zaliczyć można m.in. obserwacje naszego zespołu, dotyczące eksperymentalnego zakażenia królików wirusem RHD i rejestracji wskaźników odporności nieswoistej – obecnie odporności naturalnej.

**Cel pracy:** Analiza 13 wskaźników odporności naturalnej, u królików zakażonych 25 szczepami wirusa RHD o różnych cechach biologicznych.

**Materiał i metody:** We krwi obwodowej oraz w surowicy u królików dokonano oceny zdolności adhezji oraz pochłaniania komórek PMN, a także oceniono bójczość tych komórek, w teście redukcji NBT – spontanicznym, stymulowanym i spektrofotometrycznym. Wyliczono także współczynnik aktywności metabolicznej granulocytów dla testu spontanicznego i stymulowanego oraz indeks stymulacji. Badano test wewnątrzkomórkowego zabijania, aktywność mieloperoksydazy leukocytów, a także stężenie lizozymu w surowicy krwi oraz ilość limfocytów CD8+ (Tc).

**Wyniki i omówienie:** Analiza zmian dotycząca 13 badanych parametrów u królików zakażonych 25 szczepami wirusa RHD wykazała: stymulujące, supresyjne oraz dwojakie działanie badanych szczepów na określone wskaźniki. Zarejestrowano, że 6 szczepów (Fr-2, BLA, Fr-1, MAŁ, ŻD i Triptis) wykazało działanie stymulujące; 8 szczepów (KGM, GSK, 9905, Vt97, Hagenow, Hartmannsdorf, Rainham, 1447V/94) manifestowało się zrównoważonym działaniem, tak stymulującym, jak i supresyjnym, zaś pozostałe 11 szczepów (Kr-1, SGM, PD, CAMPV-351, CAMPV-561, CAMPV-562, CAMPV-558, BS89, Pv97, Frankfurt, Asturias) wykazało tylko supresyjne działanie. Wykazano także więcej zmian w postaci wzrostów, co wskazywałoby na wzmożoną aktywność odporności naturalnej w tej infekcji. Nadto wyniki szeregują szczepy, w zależności od ilości zmian, w 3 immunogrupy (immunotypy), z tym że pierwszą tworzą szczepy Kr-1 i Fr-2; drugą szczepy SGM, CAMPV-351 i Vt97, BLA, Fr-1, Frankfurt, KGM i Pv97, Asturias i Hagenow, MAŁ, a trzecią szczepy CAMPV-561, GSK, BS89, CAMPV-558 i PD, 1147V/94 i Triptis, Rainham, ŻD, 9905, CAMPV-562, Hartmannsdorf.

*Praca finansowana z grantu MNiSW N N308 289937.*





## AKTYWNOŚĆ PROLIFERACYJNA I APOPTOTYCZNA KOMÓREK GLEJAKA WIELOPOSTACIOWEGO NA MODELU *IN OVO*

### PROLIFERATION AND APOPTOTIC ACTIVITY OF GLIOBLASTOMA MULTIFORME ON *IN OVO* MODEL

Kaja Urbańska, Justyna Sokołowska, Łukasz Rapała, Piotr Trzeciak, Anna Maria Duszewska,  
Maciej Szmidt, Paweł Sysa

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Morfologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: kaja.urbanska@onet.eu

Badania nad mechanizmami zahamowania rozwoju glejaka wielopostaciowego przeprowadza się w warunkach *in vitro*, jednak z uwagi na niepełną odpowiedź tak hodowanych komórek nowotworowych uzasadnione wydaje się podejmowanie obserwacji wykorzystujących model zwierzęcy. Tego typu doświadczenia wykonuje się przede wszystkim na gryzoniach laboratoryjnych, a także psach. W ostatnich latach obserwuje się również znaczący wzrost zainteresowania badaniami na zarodkach ptasich. Podjęcie badań na modelu *in ovo* powinno zostać poprzedzone poznaniem biologii otrzymanego w taki sposób nowotworu. Do chwili obecnej glejak wielopostaciowy otrzymany na tym modelu nie został scharakteryzowany. W dostępnej literaturze istnieją sprzeczne dane dotyczące aktywności proliferacyjnej glejaka na modelu *in ovo*, natomiast jego aktywność apoptotyczna nie została opisana.

**Cel pracy:** Ocena aktywności proliferacyjnej i apoptotycznej komórek glejaka wielopostaciowego na modelu *in ovo*.

**Materiał i metody:** Komórki glejaka wielopostaciowego linii U87 przeszczepiono na błonę kosmówkowo-omoczniovą zarodka kury domowej w 7. dniu rozwoju zarodkowego. 9 dni później dokonano ich eutanazji. Wyizolowane guzy, w liczbie 13 sztuk, utrwalono w 10% zbuforowanej formalinie. Po utrwaleniu pobrany materiał poddano rutynowej obróbce histologicznej i zatopiono w parafinie. Otrzymane preparaty barwiono metodami immunohistochemicznymi. Indeks proliferacji wyrażono na podstawie analizy ekspresji antygenu Ki-67 w komórkach glejaka wielopostaciowego. W celu oceny aktywności apoptotycznej komórek glejaka wielopostaciowego na modelu *in ovo* zastosowano metodę TUNEL. W obu przypadkach indeksy zdefiniowano jako procentową liczbę komórek pozytywnie barwiących się w populacji 1000 komórek.

**Wyniki:** Indeks proliferacyjny komórek glejaka wielopostaciowego oszacowano na 24,10–36,00% (średnio 28,89%). Analiza mikroskopowa wykazała także obecność pojedynczych, zmienionych apoptotycznie komórek glejaka. Indeks apoptotyczny znajdował się na poziomie 1,1–2,4% (średnio 1,15%).

**Omówienie:** Ekspresję Ki-67 w komórkach glejaków spontanicznych szacuje się na 29,4% oraz 25,6% u dzieci i dorosłych [1]. Wartości otrzymane w niniejszym opracowaniu mieszczą się w przedziale podanym przez Mahvash i wsp. [1]. Szczegółową charakterystykę ekspresji białka Ki-67 w komórkach glejaka wielopostaciowego linii U87 hodowanych w warunkach *in ovo* przeprowadzili Strojnik i wsp. [3]. Szacowana wartość Ki-67 znajdowała się na poziomie 30%. Nasilenie apoptozy komórek nowotworu wzrastającego w warunkach *in ovo*, podobnie jak w komórkach glejaków spontanicznych, nie jest duże. W badaniach Sipos i wsp. [2] indeks apoptotyczny glejaka wielopostaciowego, w większości przypadków wynosił 0,9 i 2,2%. Otrzymane wyniki wskazują na podobieństwa biologii tak otrzymanego nowotworu do nowotworu wzrastającego spontanicznie. Przeprowadzone badania wskazują na potrzebę kontynuacji tematu na podstawie większej liczby analizowanych przypadków

#### Piśmiennictwo:

- [1] Mahvash M., Hugo H.H., Maslehaty H., Mehdorn H.M., Stark A.M., 2011. Glioblastoma Multiforme in Children: Report of 13 Cases and Review of the Literature. *Pediatric Neurology*, 45, 178–180.
- [2] Sipos L., Szegedi Z., Fedorcák I., Áfra D., Szende B., 1998. Apoptosis and p53 expression in human gliomas. *Pathol. Oncol. Res.*, 4, 267–270.
- [3] Strojnik T., Kavalár R., Lah T.T., 2006. Experimental model and immunohistochemical analyses of U87 human glioblastoma cell xenografts in immunosuppressed rat brains. *Anticancer Res.*, 26, 2887–2900.





## EKSPRESJA BIAŁEK BAX I BCL-2 W KOMÓRKACH GLEJAKA WIELOPOSTACIOWEGO NA MODELU *IN OVO*

### BAX AND BCL-2 EXPRESSION IN GLIOBLASTOMA MULTIFORME CELLS ON *IN OVO* MODEL

Kaja Urbańska, Justyna Sokołowska, Łukasz Rapała, Piotr Trzeciak, Anna Maria Duszewska, Maciej Szmidt, Paweł Sysa

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Morfologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, e-mail: kaja.urbanska@onet.eu

Apoptoza, nazywana także programowaną śmiercią komórki, odgrywa nadrzędną rolę w przebiegu procesów fizjologicznych (np. organogenezy), jak również w patologii. Mimo tak dużej roli apoptozy w procesie onkogenezy jej znaczenie w powstawaniu nowotworów nie zostało jeszcze szczegółowo poznane. Proces nowotworzenia jest często związany z mutacjami w genach białek związanych z apoptozą. W terapii nowotworów coraz większe nadzieje wiąże się z indukcją szlaków apoptotycznych w komórkach nowotworowych. Badania nad mechanizmami zahamowania rozwoju nowotworów coraz częściej przeprowadzane są z wykorzystaniem zarodków ptasich. Jednym z takich modeli jest glejak wielopostaciowy, jednak dane dotyczące ekspresji białek pro- i antyapoptotycznych w guzie wzrastającym w takich warunkach są nieliczne, stąd konieczność podjęcia badań o podobnym zakresie.

**Cel pracy:** Ocena ekspresji białka proapoptotycznego Bax oraz antyapoptotycznego Bcl-2 w komórkach glejaka wielopostaciowego hodowanego na modelu *in ovo*.

**Materiał i metody:** Komórki glejaka wielopostaciowego linii U87 przeszczepiono na błonę kosmówkowo-omoczniową zarodka kury domowej w 7. dniu rozwoju zarodkowego, a 9 dni później dokonano ich eutanazji. Wyizolowane guzy, w liczbie 6 sztuk, utrwalono w 10% zbuforowanej formalinie. Po utrwaleniu pobrany materiał poddano rutynowej obróbce histologicznej i zatopiono w parafinie. Otrzymane preparaty barwiono metodami immunohistochemicznymi z wykorzystaniem przeciwciał Bax i Bcl-2. Ekspresja białka Bax i Bcl-2 została wyrażona jako procentowa liczba komórek pozytywnych dla danego białka w populacji 1000 komórek.

**Wyniki:** Ekspresję białka Bax w komórkach glejaka wielopostaciowego oszacowano na 39,30–45,00% (średnio 42,95%), natomiast liczba komórek pozytywnych dla białka Bcl-2 wynosiła 6,00–24,20% (średnio 14,96), przy czym komórki Bcl-2<sup>+</sup> wykazywały jądrową lokalizację tego białka.

**Omówienie:** Istnieje tylko jedna praca opisująca lokalizację białka Bax w komórkach glejaka wielopostaciowego linii U87 przeszczepionych do mózgu myszy [4]. Ekspresję białka Bax w komórkach glejaków spontanicznych szacuje się na 28–78%, natomiast dla białka Bcl-2 przedział ten wynosi od 0% do 7% [2]. W innych opracowaniach komórki pozytywne dla Bcl-2 szacowano na 16,64–56,92% [3] lub 9,09% [1]. Wartości otrzymane w niniejszym opracowaniu mieszczą się w przedziałach podanych przez zacytowanych autorów. Przeprowadzone badania wskazują na potrzebę kontynuacji badań z tego zakresu na podstawie większej liczby analizowanych przypadków.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Zarnescu O., Brehar F.M., Chivu M., Ciurea A.V., 2008. Immunohistochemical localization of caspase-3, caspase-9 and Bax in U87 glioblastoma xenografts. *J Mol Histol.*, 39:6,561–569.
- [2] Ardeleanu C., Ceaușu M., Butur G., Grămadă Z.F., Dănilă L., Hălălu F., Arsene D., 2005. p53 protein and bcl-2 expression in glioblastomas. Pathological correlations in a comprehensive series. *Rom J Morphol Embryol.*, 46:4, 275–278.
- [3] Martin S., Toquet C., Oliver L., Cartron P.F., Perrin P., Meflah K., Cuillère P., Vallette F.M., 2001. Expression of bcl-2, bax and bcl-xl in human gliomas: a re-appraisal. *J Neurooncol.*, 52:2,129–39.
- [4] Tirapelli L.F., Bolini P.H., Tirapelli D.P., Peria F.M., Becker A.N., Saggiaro F.P., Carlotti C.G., 2010. Caspase-3 and Bcl-2 expression in glioblastoma: an immunohistochemical study. *Arq Neuropsiquiatr.*, 68, 4, 603–607.



## IDENTYFIKACJA I GENOTYPOWANIE SZCZEPÓW *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES*. PORÓWNANIE METOD

## IDENTIFICATION AND GENOTYPING *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES* STRAINS. COMPARISON OF METHODS

Grażyna Ziółkowska, Aneta Nowakiewicz

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin,  
e-mail: anowakiewicz@gmail.com

Dermatofity należące do grupy *Trichophyton mentagrophytes* complex stanowią jedną z poważniejszych przyczyn schorzeń dermatologicznych występujących nie tylko u zwierząt, ale również mogących wywoływać grzybice powierzchniowe u ludzi. Ze względu na wprowadzane ostatnio zmiany w systematyce tych grzybów zarówno diagnostyka klasyczna, jak i molekularna napotyka na wiele trudności w szczegółowej identyfikacji, zwłaszcza w aspekcie gatunków antropofilnych i zoofilnych.

**Cel badań:** Przeprowadzenie analizy fenotypowej i genotypowej grzybów należących do *Trichophyton mentagrophytes* complex i ustalenie ich przynależności do określonych taksonów.

**Materiał i metody:** Badaniami objęto 22 izolaty pochodzące z przypadków dermatofitoz zwierząt (koty, psy, bydło, gryzonie) oraz ludzi. Po 10-dniowej inkubacji określono istotne cechy makro- (wielkość, charakter powierzchni oraz barwa kolonii) i mikromorfologii (rodzaj i ilość mikro- makrokonidii oraz innych form) w odniesieniu do szczepów referencyjnych (CBS). Materiał do badań molekularnych (RFLP-ITS oraz RAPD) stanowiło genomowe DNA, którego użyto w reakcji PCR. Do amplifikacji wykorzystano uniwersalne startery ITS1-ITS4. Uzyskany produkt trawiono następującymi enzymami: MvaI, HhaI, EcoRI oraz HinfI. Jako startera w reakcji RAPD użyto OPT20.

**Wyniki i omówienie:** Badane szczepy wykazały się stosunkowo dużym zróżnicowaniem, z wyjątkiem profilu uzyskanego w wyniku trawienia produktu ITS-PCR (680pz) enzymem EcoRI, jednakowego dla wszystkich badanych szczepów, pozostałe reakcje pozwoliły uzyskać dwa lub trzy różne wzorce odpowiadające poszczególnym gatunkom należącym do grupy *Trichophyton mentagrophytes* complex. Użycie startera OPT 20 w metodzie RAPD, nie pozwoliło na jednoznaczne przyporządkowanie do ustalonych wcześniej genotypów badanych szczepów (niska siła dyskryminacyjna), jednakże w pewnym stopniu potwierdziła wyniki uzyskane metodą ITS-RFLP.

### Piśmiennictwo:

- [1] Mochizuki T., Ishizaki H., Barton R.C. et al., 2003. Restriction fragment length polymorphism analysis of ribosomal DNA intergenic regions is useful for differentiating strains of *Trichophyton mentagrophytes*. J. Clin. Microbiol. 41, 4583–4588.
- [2] Mohizuki T., Tanabe H., Kawasaki M. et al., 2003. Rapid identification of *Trichophyton tonsurans* by PCR-RFLP analysis of ribosomal DNA regions. J. Dermatol. Sci., 32, 25–32.



**SEKCJA  
ZWIERZĄT NIEUDOMOWIONYCH  
I FUTERKOWYCH**







## WYSTĘPOWANIE GRUŹLICY U ZWIERZĄT WOLNO ŻYJĄCYCH NA ŚWIECIE W ASPEKTCIE INFEKCJI *MYCOBACTERIUM BOVIS* W POPULACJI ŻUBRÓW W BIESZCZADACH

### THE OCCURRENCE OF TUBERCULOSIS IN WILDLIFE ANIMALS IN THE WORLD IN THE ASPECTS OF *MYCOBACTERIUM BOVIS* INFECTION IN A POPULATION OF BISON (*BISON BONASUS*) IN BIESZCZADY

Andrzej Salwa

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Kaprów 10, 80-316 Gdańsk-Oliwa, e-mail: andrzejsalwa@poczta.onet.pl

Od lat siedemdziesiątych ubiegłego wieku w wielu krajach na świecie u zwierząt wolno żyjących notuje się nasilenie występowania różnych chorób zakaźnych i pasożytniczych. Dotyczy to między innymi brucelozy, gruźlicy, leptospirozy, gorączki Q, wirusowej biegunki i choroby błon śluzowych (BVD-MD), nosówki, różnych zakażeń herpeswirusowych. Czynniki sprzyjającymi pojawieniu tych chorób najczęściej są: wspólne pastwiska i wodopoje, przeznaczanie terenów leśnych pod uprawy rolne, przemieszczanie zwierząt do nowego środowiska bez uprzedniego rozpoznania epizootycznego, wzrost liczby zwierząt (zagęszczenia) na danym terenie, dokarmianie zwierząt w okresie zimy, zmiany klimatyczne, zanieczyszczenie środowiska oraz rozwój agroturystyki. Z drugiej zaś strony, w przypadku niektórych chorób zwierzęta wolno żyjące uważa się również za potencjalny rezerwuuar zarazków chorobotwórczych dla ludzi, zwierząt domowych i innych zwierząt wolno żyjących, bytujących w tym samym środowisku. Zaistniała sytuacja epizootologiczna utrudnia lub wręcz uniemożliwia skuteczną walkę z tymi zakażeniami. Jak wskazują liczne dane literaturowe, źródłem *M. bovis* dla zwierząt wolno żyjących było wcześniej zakażone bydło domowe.

Tabela 1. Najważniejsze rezerwuary *M. bovis* u zwierząt wolno żyjących na świecie

Kraj	Gatunek uważany jako rezerwuuar <i>M. bovis</i>	Inne gatunki zakażone
Kanada (stan Alberta)	Bizony	Jelenie, dziki
Kanada (stan Manitoba)	Jelenie	Bydło, wilki
USA (stan Michigan)	Jelenie	Kojoty, lisy, niedźwiedzie, bydło
Australia	Bawoły wodne	dziki, bydło
Nowa Zelandia	Oposy	Jelenie, fretki, dziki
Afryka Południowa	Bawoły afrykańskie	Lwy, lamparty, kudu, pawiany, antylopy, hieny
Anglia	Borsuki	Lisy, jelenie, bydło
Irlandia	Borsuki	Lisy, jelenie, bydło
Hiszpania	Dziki	Lisy, rysie

W zależności od kraju, gatunku zwierząt oraz stopnia rozprzestrzenienia się *M. bovis* podjęto działania stosując radykalne lub liberalne metody postępowania sanitarno-weterynaryjnego. W Anglii i Nowej Zelandii prowadzone są obecnie doświadczenia zastosowania szczepionek w immunoprofilaktyce gruźlicy.

Wystąpienie w latach 90. gruźlicy u żubrów w populacji bieszczadzkiej wywołało duże zaniepokojenie ze strony służb weterynaryjnych, lasów państwowych i instytucji związanych z ochroną środowiska. Pomimo podjętych działań w kierunku ograniczenia rozprzestrzenienia się gruźlicy, poprzez próbę eliminacji zakaźnego stada żubrów – choroby nie udało się do tej pory zlikwidować. Na tym terenie również izolowano *M. bovis* od boruska oraz *M. tuberculosis* od trzech wilków.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Palmer M.V., 2008. *Mycobacterium bovis* shuttles between domestic animals and wildlife. *Microbe*, 3:1, 27–34.
- [2] van Empel P.C.M., Hafez H.M., 1999. *Ornithobacterium rhinotracheale*: A review, *Avian Pathology*, 28:3, 217–227.



## ENCEPHALITOOZONOZA – CHOROBA NIE TYLKO KRÓLIKÓW

## ENCEPHALITOOZONOSIS – NOT ONLY RABBIT'S DISEASE

Izabella Babińska<sup>1</sup>, Magdalena Szweda<sup>1</sup>, Anna Kołodziejska-Sawerska<sup>2</sup>, Józef Szarek<sup>1</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Patofizjologii, Weterynarii Sądowej i Administracji, <sup>2</sup>Katedra Diagnostyki Klinicznej  
e-mail: szarek@uwm.edu.pl

**Wstęp:** *Encephalitozoon cuniculi*, mimo swego rozpowszechnienia wśród zwierząt domowych, rzadko jest brany pod uwagę w diagnostyce różnicowej chorób przebiegających z objawami ze strony układu nerwowego. Oprócz królików zarażeniu ulegają psy, koty, lisy, szczury, myszy, świnki morskie, a także człowiek (AIDS).

**Patogeneza encefalitozoozy:** U królików choroba przebiega w formie klinicznej lub bezobjawowej i najczęściej ma charakter przewlekły. Kliniczna forma choroby jest różna u różnych ras królików, i tak u ras standardowych jest to najczęściej niewydolność nerek, natomiast u ras miniaturowych przeważa postać nerwowa. Postać nerkowa objawia się poliurią, polidypsją, zauważa się wychudzenie i wyniszczenie zwierząt. Histopatologicznie stwierdza się śródmiąższowe zapalenie nerek, ogniska zwłóknienia i torbiele w warstwie korowej, martwicę nabłonka kanalików nerkowych z naciekiem limfocytarnym. W postaci nerwowej występują skręt szyi, niezdolność ruchowa, niedowład i porażenia kończyn miednicznych, napady drgawek i oczopląs. Może rozwijać się fakolityczne zapalenie błony naczyniowej gałki ocznej. Histopatologicznie obserwuje się ogniskowe nieropne, ziarniniakowe zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego z rozplemem gleju. U psów i kotów encefalitozooza występuje bardzo rzadko. Jednakże, jeżeli u kilkutygodniowego szczenięcia zostaną zaobserwowane objawy niewydolności nerek i zaburzenia ośrodkowego układu nerwowego, to jako przyczynę choroby należy rozważyć *E. cuniculi*. Klinicznie choroba przejawia się drgawkami, niezdolnością ruchową, poliurią, agresją i zmianą głosu. Zmiany mikroskopowe w nerkach i mózgu są podobne do tych stwierdzanych u królików. Natomiast odnośnie układu krwionośnego to u królików występuje tylko zapalenie naczyń krwionośnych i mięśnia sercowego, a u psów dochodzi nawet do martwicy mięśnia sercowego.

**Rozpoznanie:** Metody laboratoryjne często zawodzą w przyżyciowym diagnozowaniu zakażenia *E. cuniculi*. Testy serologiczne (np. ELISA) mogą być używane do określania zdrowotności stad królików, w których znane jest miano przeciwciał, natomiast nie sprawdzają się u zwierząt utrzymywanych pojedynczo w domach. Potwierdzeniem rozpoznania jest znalezienie spor pierwotniaka w moczu, jednakże należy pamiętać, że są one wydalane krótko po zakażeniu. Najlepsze rezultaty daje stosowanie testu łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR), który to test jest standardowo wykorzystywany w medycynie człowieka. W diagnostyce *post mortem* wykorzystuje się badania histopatologiczne nerek i mózgu. Oprócz standardowego barwienia metodą hematoksylina – eozyna stosuje się impregnację srebrem, która ujawnia ziarniniaki oraz samego pasożyta w postaci pałeczkowatych tworów długości ok. 2 µm. To badanie najlepiej jest wykonać u osobników wykazujących zaawansowane objawy kliniczne, ponieważ charakterystyczne zmiany histopatologiczne rozwijają się 4–5 tygodni po zakażeniu.

**Leczenie:** Najczęściej stosuje się leczenie objawowe, uzależnione od narządu, który jest objęty procesem chorobowym (nerki, mózg, serce). Przy objawach ze strony układu nerwowego podaje się glikokortykosterydy (np. dexamethasone), najlepiej łącznie z wysokimi dawkami witamin z grupy B. Leczenie niewydolności nerek oparte jest na płynoterapii z furosemidem. Przy fakolitycznym zapaleniu gałki ocznej niezbędne jest miejscowe podawanie sterydów oraz antybiotykoterapia (np. tetracyklina). Do leczenia przyczynowego stosuje się albendazol lub fenbendazol. W celu eliminowania wtórnych zakażeń bakteryjnych należy prowadzić antybiotykoterapię.



## CHARAKTERYSTYKA URAZÓW WIELONARZĄDOWYCH U KOZIC TATRZAŃSKICH (*RUPICAPRA RUPICAPRA TATRICA*) POWSTAŁYCH W WYNIKU UPADKU Z DUŻEJ WYSOKOŚCI – OPIS PRZYPADKU

### CHARACTERISTIC OF MULTI-ORGAN INJURY IN TATRA CHAMOIS (*RUPICAPRA RUPICAPRA TATRICA*) FALLING FROM A HIGH ALTITUDE – CASE REPORT

Michał Bednarski<sup>1</sup>, Marek Houszka<sup>2</sup>, Maciej Klimecki<sup>4</sup>, Radosław Mateja<sup>4</sup>, Tomasz Piasecki<sup>1</sup>,  
Michał Walkosz<sup>4</sup>, Joanna Sowa<sup>3</sup>, Filip Zięba<sup>4</sup>, Tadeusz Zwijacz<sup>4</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, <sup>2</sup>Pracownia Ekologii i Chorób Zwierząt Łownych, ul. C.K. Norwida 31, 51-375 Wrocław, <sup>3</sup>Katedra i Klinika Chirurgii Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław

<sup>4</sup>Tatrzański Park Narodowy, Kuźnice 1, 34-500 Zakopane  
e-mail: [michal.bednarski@up.wroc.pl](mailto:michal.bednarski@up.wroc.pl)

Urazy powstałe w wyniku upadku z dużej wysokości są dobrze znane i opisywane w medycynie ludzkiej. Natomiast w medycynie weterynaryjnej opisy takich przypadków należą do rzadkości.

**Cel pracy:** Przedstawienie charakteru urazów u kozic górskich po upadku z dużej wysokości.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły dwie kozice górskie (samica, wiek około 6 lat, kotna oraz samiec, wiek około 1 roku). Do upadku doszło z wysokości około 150–250 m z Długiego Giewontu do żlebu Banie w lutym 2012 r. Dostarczone do badań zwierzęta przez pracowników Tatrzańskiego Parku Narodowego zostały poddane badaniu rentgenowskiemu, a następnie sekcji oraz badaniom mikrobiologicznym, parazytologicznym i histopatologicznym.

**Wyniki:** Obydwa badane osobniki były w kondycji dobrej. U kozicy stwierdzono: złamanie kręgosłupa na wysokości kręgów piersiowych (Th) 3/4 oraz 10/11; złamania przykręgowce żeber (4–10 z prawej strony i 4–13 z lewej strony) wraz z zerwaniem mięśni międzyżebrowych i przemieszczenie końców dalszych żeber do jamy klatki piersiowej. Ostre końce złamanych żeber wbiły się w płuca i serce, powodując liczne głębokie rany z wynaczynieniami oraz rozedmą śródmiąższową płuc. W wyniku pęknięcia przepony czepiec przemieścił się do klatki piersiowej. Pęknięciu uległy także nerki, wątroba, żwacz (długość pęknięcia 14 cm). Pęknięciu uległa również macica i łożysko, a płód wypadł do jamy brzusznej. U drugiego osobnika stwierdzono złamanie kręgosłupa szyjnego na wysokości C3 oraz C5; pęknięcie przepony oraz przemieszczenie czepca wraz z częścią dogłową żwacza do jamy klatki piersiowej. W płucach były liczne krwiaki oraz rozedma śródmiąższowa płuc. U żadnego z badanych zwierząt nie stwierdzono złamań w obrębie czaszki i kończyn.



## PRZYPADEK ADENOMATOZY PŁUC U SARNY

## ADENOMATOSIS OF LAUNG IN ROEDEER – CASE REPORT

Michał Bednarski<sup>1</sup>, Marek Houszka<sup>2</sup>, Tomasz Piasecki<sup>1</sup>, Edmund Wlekliński<sup>4</sup>, Rafał Kolenda<sup>3</sup>, Dawid Król<sup>3</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, , pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, <sup>2</sup>Pracownia Ekologii i Chorób Zwierząt Łownych, ul. C. K. Norwida 31, 51-375 Wrocław

<sup>3</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Studenci V roku

<sup>4</sup>Nadleśnictwo Piaski, Regionalna Dyrekcja Lasów Państwowych Poznań, ul. Drzeczewska 1, 63-820 Piaski  
e-mail: [michal.bednarski@up.wroc.pl](mailto:michal.bednarski@up.wroc.pl)

Adenomatoza (adenocarcinoma) płuc jest procesem nowotworowym najczęściej stwierdzanym u owiec. W przypadku tego gatunków zwierząt przyczyną choroby jest retrowirus – jaagsiekte sheep retrowirus (JRSV). Jednak adenomatoza płuc jest również notowana u innych zwierząt, zwłaszcza kóz i muflonów. Należy zaznaczyć, że w przypadku tych zwierząt zmiany nowotworowe nie zawsze mają etiologię zakaźną.

W przebiegu adenomatozy płuc dochodzi do transformacji nowotworowej i nadmiernej proliferacji pneumocytów i nabłonka oskrzelików. Choroba ma charakter przewlekły. Makroskopowe zmiany mają charakter szarych, litych guzów lub nacieków wyraźnie oddzielonych od prawidłowej tkanki płucnej. W niniejszym doniesieniu został opisany przypadek adenomatozy płuc u sarny.

**Materiał i metody:** Przypadek adenomatozy zdiagnozowano w trakcie badania sekcyjnego sarny (samica, wiek około 3 lat). Zwierzę zostało dostarczone przez pracowników Nadleśnictwa Piaski, województwo dolnośląskie. Jak wynika z obserwacji pracowników nadleśnictwa, zwierzę przebywało w stadzie liczącym 12–15 sztuk i padło nagle. Bezpośrednio po śmierci zostało przetransportowane do Katedry Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych w celu wykonania badania sekcyjnego.

**Wyniki:** Kondycja sarny została oceniona jako dobra. W płucu prawym stwierdzono masywny guz (15x20 cm) koloru szarego o litej strukturze, wyraźnie oddzielone od prawidłowej tkanki płucnej. We wszystkich płatach rozsiane były podobne liczne, niewielkie guzki średnicy 2–20mm. W obrazie mikroskopowym przedstawiały one ogniska proliferacji izoprzymatycznych lub niskich przymatycznych komórek nabłonkowych wyścielających struktury pęcherzykowate i formujących brodawkowate wpuklenia do ich światła. Proliferacji nabłonka towarzyszyły mniej lub bardziej rozlane limfo- i histocytarne nacieki zapalne.

**Wnioski:** Występowanie adenomatozy u saren należy do rzadkości i nie zostało opisane dotychczas w literaturze krajowej. Kolejnym etapem badań będzie stwierdzenie, czy przyczyną powstania nowotworu było zakażenie retrowirusowe, tak jak ma to miejsce w przypadku owiec.



## FIBROSARCOMA U SZCZURA DOMOWEGO – OPIS PRZYPADKU

### FIBROSARCOMA IN PET RAT – CASE STUDY

Wojciech Bielecki<sup>1</sup>, Karolina Barszcz<sup>2</sup>, Agata Godlewska<sup>5</sup>, Dawid Jańczak<sup>3</sup>,  
Magdalena Rzewuska<sup>4</sup>, Marta Kupczyńska<sup>2</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, <sup>1</sup>Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, <sup>2</sup>Katedra Nauk Morfologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa, <sup>3</sup>Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Student IV roku, <sup>4</sup>Katedra Nauk Przedklinicznych, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa <sup>5</sup>Przychodnia Weterynaryjna OGONEK, ul. Klemensiewicza 7, 01-318 Warszawa  
e-mail: wojciech\_bielecki@sggw.pl

Nowotwory są drugim po przewlekłych zapaleniach dróg oddechowych najpowszechniej spotykanym problemem zdrowotnym u szczurów [1]. Spośród wszystkich rodzajów nowotworów stwierdzanych u tego gatunku zwierząt, włókniakomięsak (*fibrosarcoma*) występuje rzadko.

**Cel pracy:** Przedstawienie opisu przypadku klinicznego fibrosarcomy u szczura.

**Opis przypadku:** Pacjent: szczur, samica o masie ciała 300 g, maści husky, w wieku 1,5 roku. Badanie kliniczne przeprowadzone podczas pierwszej wizyty wykazało duszność mieszaną. Pacjentka często kichała, podczas wydechu dało się słyszeć świsty i charczenie. Podczas osłuchiwania klatki piersiowej stwierdzono wzmożony szmer oddechowy. Powyższe objawy sugerowały zapalenie górnych i dolnych dróg oddechowych. W związku z tym zalecono podawanie enrofloksacyny oraz wykonano jednorazowo domięśniową iniekcję deksametazonu.

Po 5 dniach od zakończenia leczenia nastąpiło nagłe pogorszenie stanu ogólnego zwierzęcia. Podczas badania klinicznego zaobserwowano lewostronny kręcz głowy i szyi (*torticollis*), wytrzeszcz i zmętnienie rogówki oka lewego oraz silną duszność, na którą wskazywała intensywna praca tłoczni brzusznej. Stwierdzono ponadto brak odruchu powiekowego i rogówkowego w oku lewym, co w połączeniu z brakiem wydzielania łez sugerowało porażenie nerwu twarzonego lewego. Badanie palpacyjne okolicy szyi po stronie lewej wykazało obecność guzowatego tworzenia wielkości owocu wiśni, który był tęgi, niebolesny, nieprzesuwalny, miał gładką powierzchnię. Wykonano punkcję, w której aspirowano ok. 1 cm<sup>3</sup> mętnego, kremowego płynu z serowatymi kłaczkami.

W badaniu otoskopowym stwierdzono obecność litego tworzenia wpuklającego się do światła lewego przewodu słuchowego zewnętrznego od strony ucha środkowego. Ze względu na złe rokowanie, podjęto decyzję o eutanazji zwierzęcia.

**Wyniki i omówienie:** Z materiału w postaci aspiratu wykonano badanie mikrobiologiczne, w którym nie stwierdzono obecności bakterii tlenowych, beztlenowych ani grzybów. W obrazie histologicznym guza na podstawie cech morfologicznych tkanki postawiono rozpoznanie *fibrosarcoma*.

W przedstawionym przypadku klinicznym stwierdzone podczas pierwszej wizyty objawy sugerowały powszechnie występujące u szczurów zapalenie górnych i dolnych dróg oddechowych. Po 5 dniach od zakończenia leczenia stwierdzono lewostronny kręcz głowy i szyi, porażenie nerwu twarzonego lewego, obecność guzowatego tworzenia w okolicy bocznej szyi po stronie lewej oraz litego tworzenia wpuklającego się do światła lewego przewodu słuchowego zewnętrznego od strony ucha środkowego. Zaobserwowane podczas drugiej wizyty zmiany kliniczne sugerowały raczej nowotworowe niż infekcyjne tło zaburzeń. Przypuszcza się, iż chwilowa poprawa mogła mieć związek z przeciwobrzękowym i przeciwzapalnym działaniem deksametazonu na rosnący nowotwór oraz stłumieniem ewentualnej wtórnej infekcji układu oddechowego dzięki enrofloksacynie. Zmiany rozrostowe obejmujące okolicę szyi, ucha środkowego i wewnętrznego oraz jamę czaszki były bardziej rozległe, niż podejrzewano na podstawie zaobserwowanych objawów klinicznych.

Bardzo ważne jest indywidualne podejście oraz wnikliwe badanie kliniczne każdego z pacjentów. Umożliwiają one bowiem uniknięcie błędów, postawienie trafnej diagnozy oraz wdrożenie właściwego postępowania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Quesenberry K.E, Carpenter J.W., Ferrets, Rabbits and Rodents. Clinical Medicine and Surgery (2<sup>nd</sup> edition), Saunders, St. Louis.





## PODODERMATITIS U SZCZURÓW LABORATORYJNYCH

### PODODERMATITIS IN LABORATORY RATS

Wojciech Bielecki<sup>1</sup>, Karolina Barszcz<sup>2</sup>, Dariusz Kamola<sup>3</sup>, Jacek Wilczak<sup>3</sup>, Agata Godlewska<sup>4</sup>,  
Magdalena Rzewuska<sup>5</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, <sup>1</sup>Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej,  
<sup>2</sup>Katedra Nauk Morfologicznych, <sup>3</sup>Katedra Nauk Fizjologicznych, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa,  
<sup>4</sup>Katedra Nauk Przedklinicznych, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa  
<sup>5</sup>Przychodnia Weterynaryjna OGONEK, ul. Klemensiewicza 7, 01-318 Warszawa  
e-mail: wojciech\_bielecki@sggw.pl

Zapalenie skóry podeszwowej (*pododermatitis*) jest częstym problemem zdrowotnym u wielu gatunków zwierząt egzotycznych utrzymanych w domach, jak również w hodowlach laboratoryjnych. Jego leczenie stanowi za każdym razem wyzwanie dla lekarza weterynarii [1, 2].

**Cel pracy:** Przedstawienie wyników badań klinicznych u szczurów laboratoryjnych w doświadczeniu chronicznym.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na grupie 88 szczurów laboratoryjnych Sprague-Dawley w wieku 10 mies., o masie ciała od 520–995 g pochodzących z Charles Rivers Laboratory, Niemcy. Osobniki te utrzymywano w klatkach o podłożu drucianym z niewielką ilością ligniny. Po przeprowadzeniu badania klinicznego od wybranych losowo osobników pobrano wymaz z owrzodzeń stóp do badania bakteriologicznego.

**Wyniki i omówienie:** W przebadanej grupie szczurów jedynie w przypadku 35 osobników (39,77%) nie zaobserwowano zmian na skórze podeszw. U pozosaley 53 szczurów (60,23%) odnotowano następujące zmiany patologiczne: owrzodzenia, obrzęki, nadżerki, deformacje stawów, hiperkeratozę, strupy. Dotyczyły one jednej bądź obu kończyn. Badanie bakteriologiczne wymazu z owrzodzeń stóp wykazało obecność licznych kolonii *Staphylococcus aureus*.

Długotrwały ucisk mechaniczny skóry podeszwy prowadzi do jej ogniskowej martwicy, zaczerwienienia i hiperkeratozy naskórka. Skóra staje się bardziej wrażliwa na urazy mechaniczne i obserwować można przejściowe krwawienia. Kolejnym stadium jest powstanie owrzodzenia, które ulega stopniowemu powiększaniu się. Najczęściej izolowanymi patogenami z tkanek zmienionych jest *Staphylococcus aureus*. Proces chorobowy może szerzyć się głębiej, obejmując ścięgna zginaczy, stawy palców i kości. Rokowanie na tym etapie jest ostrożne do złego. Istnieje także ryzyko posocznicy i śmierci pacjenta. Przewlekły stan zapalny prowadzi do powstania ziarniniaków.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Gabrisch K., Zwart P., 2009. Praktyka kliniczna: zwierzęta egzotyczne. Galaktyka, Łódź.
- [2] Quesenberry K.E, Carpenter J.W., Ferrets, Rabbits and Rodents. Clinical Medicine and Surgery (2<sup>nd</sup> edition), Saunders, St. Louis.



## NOWOTWORY U ZWIERZĄT LABORATORYJNYCH UTRZYMYWANYCH JAKO ZWIERZĘTA TOWARZYSZĄCE

### TUMOURS IN LABORATORY ANIMALS KEPT AS ACCOMPANYING PETS

Wojciech Bielecki<sup>1</sup>, Małgorzata Sobczak-Filipiak<sup>1</sup>, Michał Czopowicz<sup>2</sup>, Milena Wojtyś-Gajda<sup>3</sup>,  
Jakub Kliszcz<sup>3</sup>, Agata Godlewska<sup>3</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, <sup>2</sup>Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa; wojciech\_bielecki@sggw.pl

<sup>3</sup>Przychodnia Weterynaryjna „OGONEK”, ul. Klemensiewicza 7, 01-318 Warszawa

**Wstęp:** Gatunki zwierząt hodowanych do celów doświadczalnych są coraz częściej utrzymywane w domach jako zwierzęta towarzyszące. Zwierzęta laboratoryjne mają udokumentowane pochodzenie, wobec czego do- kładnie wiadomo, jakie są ich predyspozycje do zapadania na określone choroby, w tym – nowotworowe. Na przykład u myszy ze szczepów wsobnych występują nowotwory sutka (A, C3H, RIII, DBAZ), wątroby (CBA), jajników, płuc i nadnerczy (BALB) oraz białaczka (AKR); u szczurów – guzy sutka (ALB), białaczka szpikowa (BN), rak przełyku i pęcherza (Fisher344). Jeśli chodzi o myszy, szczury, świnki morskie czy chomiki trzyma- ne jako zwierzęta towarzyszące, zazwyczaj właściciele nie wiedzą, z jakiej hodowli ich zwierzę pochodzi, co sprawia, że określenie jego podatności na choroby nowotworowe jest niemożliwe.

**Cel pracy:** Ustalenie, jakie nowotwory stwierdzane bywają u ww. zwierząt.

**Materiał i metody:** Analizie poddano wyniki badań histopatologicznych z lat 2010–2011. Brano pod uwagę materiał nadesłany z wstępnym klinicznym rozpoznaniem guza skóry, tkanki podskórnej lub narzą- dów wewnętrznych.

**Wyniki:** U szczurów (10 samców, 10 samic; w wieku 0–1 rok – 3 szt., 1–2 lata – 15 szt., >2 lat – 2 szt.) stwierdzono 8 guzów sutka, w tym – 6 gruczolakoraków, 1 włókniakomięsak, 1 włókniak; 2 guzy przysadki– gruczolak i gruczolakorak; 5 zmian skórnych, w tym – 1 rak, 1 bliznowiec, 3 zapalenia przewlekłe przero- stowe; 2 guzy macicy – naczynek i obłoniak; 1 tłuszczak okolicy serca; 1 chłoniak B; 1 obłoniak naciekający kręgi.

U myszy (1 samiec, 1 samica; w wieku do 1 roku i 1–2 lata) stwierdzono zapalenie głębokie i amyloidozę skóry oraz zapalenie wrzodziejące skóry, tkanki tłuszczowej i naczyń z naciekiem komórek tucznych.

U świnek morskich (7 samic, 6 samców; w wieku 1–2 lata – 5 szt., 2–3 lata – 3 szt., 3–4 lata – 1 szt., 4–5 lat – 2 szt., powyżej 5 lat – 2 szt.) stwierdzono 7 zmian skórnych, w tym 5 nowotworów: 2 tłuszczaki, guz podstawnokomórkowy, śródbłoniak mięsakowy, naczynek-włókniak i 2 bliznowce; 3 nowotwory tarczycy – gruczolak i 2 gruczolakoraki, 2 gruczolakoraki sutka i 1 – naczynek krwionośny napletka.

U królików (1 samica, 2 samce; w wieku do 1 roku – 2 szt., > 6 lat – 1 szt.) stwierdzono guz z komórek śródmiąższowych jądra – 1 i włókniakomięsak kości łopatki – 1 oraz zapalenie martwicowo-ropne skóry i mięśni okolicy grzbietu.

U psów rasy beagle (2 samice, 4 samce; w wieku 2–3 lata – 1 szt., 4 lata – 2 szt., 6 lat – 1 szt., 9–10 lat – 1 szt., 11 lat – 1 szt.) stwierdzono nasieniaki jąder – 2, zmiany skórne – 4, w tym: gruczolakorak gr. łojowych powieki – 1, 1 włókniak skóry, 2 zapalenia skóry ziarniniakowo-ropne (u 1 psa – z amyloidozą).

**Wnioski i omówienie:** Poczynione obserwacje pozwalają stwierdzić, że u zwierząt laboratoryjnych, utrzymywanych jako zwierzęta towarzyszące, pojawia się szeroka gama nowotworów o różnym pochodzeniu histogenetycznym. Nowotwory te rozwijają się spontanicznie, szczególnie u zwierząt w średnim wieku. Dane z literatury podają, że np. u 87% szczurów w wieku powyżej 2 lat stwierdzane są guzy sutka, lecz brak jest informacji o częstym występowaniu guzów tarczycy czy nowotworów naczynek-pochodnych u świnek mor- skich. Pomimo wysokich w stosunku do wartości zwierzęcia kosztów leczenia właściciele podejmują często leczenie chirurgiczne swoich zwierząt, a także decydują się na badanie histopatologiczne usuniętych zmian, stąd ważne jest kontynuowanie badań nad biologią nowotworów występujących u tych zwierząt.

#### Piśmiennictwo:

[1] Sirois M., 2005. Laboratory animal Medicine: Principles and Procedures. Elsevier Mosby, USA.



## PASOŻYTY PRZEWODU POKARMOWEGO U HODOWLANYCH MYSZY I SZCZURÓW Z TERENU WROCŁAWIA I OKOLIC

### PARASITES OF THE GASTROINTESTINAL TRACT IN HOMEBRED MICE AND RATS FROM WROCŁAW CITY AREA

Anna Błędniak, Grzegorz Pełka, Andrzej Połozowski

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, Zakład Parazytologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: greg.pelka@gmail.com

**Wstęp:** Jednymi z najpopularniejszych gryzoni spotykanych w domowych hodowlach są myszy (*Mus musculus*) i szczury (*Rattus norvegicus*). W pracy przedstawiono sytuację epidemiologiczną wśród hodowlanych myszy i szczurów z terenów Wrocławia i okolic oraz podsumowanie dostępnych metod zwalczania infekcji.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono w okresie od listopada 2011 r. do kwietnia 2012 r. Łącznie przebadano 558 osobników w 88 próbach zbiorczych. Znalezione jaja były oznaczane z użyciem dostępnych publikacji oraz kluczy [1, 9].

**Wyniki i omówienie:** Na przebadane łącznie 395 myszy wykryto pasożyty jelitowe u 303 osobników, co stanowi 76,7% badanej populacji. Z kolei na 163 przebadane szczury, jelitowe pasożyty odnaleziono jedynie w przypadku 64 osobników (39,3% populacji). W zebranych materiale wykryto jaja należące do trzech gatunków owsików (Oxyurida): *Aspicularis tetraptera* (Nitzsch, 1821), *Syphacia muris* (Yamaguti, 1935), *Syphacia obvelata* (Rudolphi, 1802), oraz jaja jednego gatunek tasiemca (Cestoda): *Hymenolepis nana* (V. Siebold 1852, Blanchard 1891).

W celu leczenia owsicy stosować można roztwór ivermektyny o stężeniu 0,01 mg/ml (ok. 0,4 mg/kg) podawane z wodą do picia co 2 tyg, przez 6 tyg (to jest trzykrotnie). Stosować również można tiabendazol (1 g/kg karmy przez 24 dni), fenbendazol (100 mg/kg karmy przez 5 dni), piperazynę (4–7 mg/ml wody przez 3–10 dni) oraz pyrantel (250 mg/kg karmy przez 4 tyg.) [11].

#### Piśmiennictwo:

- [1] Baker D.G., 2007. Parasites of rats and mice, [in:] Baker D.G., editor. Flynn's parasites of laboratory animals, 2nd ed Ames (IA): Blackwell Publishing, 303–397.
- [2] Harwell J.F., Boyd D.D., 1968. Naturally occurring oxyuriasis in mice. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1968 Oct. 1, 153 (7), 950–3.
- [3] Hasslinger MA, Wiethe T., 1987. Oxyurid infestation of small laboratory animals and its control with ivermectin. Tierarztl Prax. 15 (1), 93–7.
- [4] Hoag W.G., 1961. Oxyuriasis in laboratory mouse colonies. Am. J. Vet. Res. 22: 150–153.
- [5] Klement P., Augustine J.M., Delaney K.H., Klement G., Weitz J.I., 1996. An oral ivermectin regimen that eradicates pinworms (*Syphacia spp.*) in laboratory rats and mice. Lab. Anim. Sci., 46, 286–290.
- [6] McNair D.M., Timmons E.H., 1977. Effects of *Aspicularis tetraptera* and *Syphacia obvelata* on exploratory behavior of an inbred mouse strain. Lab. Anim. Sci., 27, 38–42.
- [7] Ross C.R., Wagner J.E., Wightmen S.R., Dill S.E., 1980. Experimental transmission of *Syphacia muris* among rats, mice, hamsters and gerbils. Lab. Anim. Sci., 30, 35–37.
- [8] Sueta T., Miyoshi I., Okamura T., Kasai N., 2002. Experimental eradication of pinworms (*Syphacia obvelata* and *Aspicularis tetraptera*) from mice colonies using ivermectin. Exp Anim. 2002 Jul, 51(4), 367–73.
- [9] Taylor M.A., Coop R.L., Wall, R.L., 2007. Veterinary Parasitology. 3rd edition, Blackwell.
- [10] Zenner L., 1998. Effective eradication of pinworms (*Syphaciamuris*, *Syphacia obvelata* and *Aspicularis tetraptera*) from a rodent breeding colony by oral anthelmintic therapy. Lab Anim. 1998 Jul, 32 (3), 337–42.
- [11] Ziętek J., Adaszek Ł., Winiarczyk S., Szczepaniak K., Tomczuk K., 2011. Choroby pasożytnicze myszy i szczurów. Cz. II – Inwazje tasiemców i nicieni. Weterynaria w Praktyce. Vol. 8 nr 6, 65–66.



## ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH METALI CIĘŻKICH W POROŻU JELENIA SZLACHETNEGO (*CERVUS ELAPHUS*) – WYNIKI WSTĘPNE

### CONCENTRATION OF SELECTED HEAVY METALS IN RED DEER (*CERVUS ELAPHUS*) ANTLERS – PRELIMINARY RESULTS

Zygmunt Gizejewski<sup>1</sup>, Józef Szkoda<sup>2</sup>, Jan Żmudzki<sup>2</sup>, Agnieszka Nawrocka<sup>2</sup>, Mirosława Kmiecik<sup>2</sup>,  
Aleksandra Gizejewska<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Polska Akademia Nauk w Olsztynie, Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności, ul. Tuwima 10,  
10-748 Olsztyn, e-mail: z.gizejewski@pan.olsztyn.pl

<sup>2</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Al. Partyzantów 57,  
24-100 Puławy

<sup>3</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Farmakologii  
i Toksykologii, ul. M. Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn

Metale ciężkie są obecne nie tylko w wysoko uprzemysłowionych regionach, ale także w znacznie oddalonych od nich terenach rolniczych i naturalnych. Zwierzęta wolno żyjące wykazują wyższy poziom skażenia substancjami toksycznymi niż gatunki hodowlane, ponieważ bytując w zróżnicowanych naturalnych ekosystemach, w większym stopniu są narażone na ewentualne niebezpieczeństwo ze strony substancji zanieczyszczających, które mogą być wchłaniane do organizmu z pobieranym pokarmem, wodą oraz z wdychanym powietrzem [1].

Poroże jeleniowatych, nakładane i zrzucane raz do roku jest unikalną tkanką pozwalającą na śledzenie zanieczyszczeń w cyklach rocznych. W fazie wzrostu poroża (marzec – lipiec), występuje silne zapotrzebowanie na budulcowe składniki mineralne, które skumulowane w porożu, wraz z obecnymi zanieczyszczeniami, stanowią obraz stanu środowiska z okresu, w którym zostało wykształcone [2].

**Cel badań:** Ocena stopnia kumulacji pierwiastków w porożu jelenia szlachetnego, tj. ołowiu, kadmu, rtęci, arsenu, cynku, żelaza i miedzi oraz określenie na ich podstawie zmian zanieczyszczenia środowiska badanymi pierwiastkami.

**Materiał i metody:** Do badań pobrano 141 próbek poroży jelenia szlachetnego (*Cervus elaphus*), zrzucanych w latach 1953–2012 z kolekcji Stacji Badawczej PAN w Popielnie (województwo warmińsko-mazurskie). Próbkę o średniej masie 5 g pozyskiwano przez nawiercanie tyk poroża jelenia wiertłem wanadowym. Wiertło wprowadzano od tylnego brzegu poroża w głąb oczniaka, pierwszego odgałęzienia tyki nad różą. Po każdorazowym pobraniu próbki wiertło dokładnie czyszczono oraz przemywano wodą destylowaną. Materiał do badań w postaci proszku szczelnie zamkniętego w polietylenowych torebkach przekazywano do laboratorium Zakładu Farmakologii i Toksykologii PIWet-PIB w Puławach. Analizy chemiczne zostały przeprowadzone z wykorzystaniem technik absorpcyjnej spektrometrii atomowej, zwalidowanymi i akredytowanymi metodami.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki wykazują wahania stężeń w zależności od roku pobrania próbki. Obecność ołowiu stwierdzono we wszystkich analizowanych próbach poroża w zakresie 0,121 do 2,929 mg/kg. Natomiast kadm występował w zakresie stężeń od 0,014 do 0,106 mg/kg. Najwyższe stężenie Hg stwierdzono w próbce poroża z 1960 r., które wynosiło 0,111 mg/kg, a najniższe 0,002 mg/kg wykazano w próbce z 2003 r. Poziom arsenu w badanych próbach ulegał znacznym wahaniom i kształtował się w zakresie od 0,001 do 0,128 mg/kg. Stężenie żelaza, cynku i miedzi w porożu wykazywało wysokie zróżnicowanie, uzależnione od miejsca pobrania próbki.

Stwierdzone poziomy analizowanych metali w badanych próbach poroża jelenia szlachetnego pochodzących z regionu Mazur określają pośrednio zawartość tych pierwiastków w środowisku. Badania będą kontynuowane w latach 2012 i 2013.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Szkoda J., Żmudzki J., Nawrocka A., Kmiecik M., 2010. Ocena zawartości pierwiastków toksycznych w żywności pochodzenia zwierzęcego, Pamiętnik Puławski, Zeszyt 151/I, 355–362.
- [2] Kierdorf H., Kierdorf U., 2004. The use of antlers to monitor temporal variation in environmental lead levels: a case study from an industrialized area in Germany, Eur. J. Wildl. Res., 50, 36–66.
- [3] Badania wykonywane są w związku z projektem badawczo-rozwojowym NN 308 600 939.





## KRWOTOCZNA ENTEROTOKSEMIA U LISÓW SREBRZYSTYCH WYWOŁANA PRZEZ *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* TYPU C I TYPU A

### HAEMORRHAGIC ENTEROTOXAEMIA BY *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* TYPE C AND TYPE A IN SILVER FOXES

Łukasz Jarosz<sup>1</sup>, Zbigniew Grądzki<sup>1</sup>, Anna Śmiech<sup>2</sup>, Marcin Kalinowski<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych, <sup>2</sup>Katedra Anatomii Patologicznej, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, e-mail: gradzki@up.lublin.pl

Zakażenia wywoływane przez beztlenowce z rodzaju *Clostridium* odgrywają ostatnio coraz większą rolę w etiopatogenezie krwotocznego zapalenia jelit i enterotoksemii u zwierząt hodowlanych i wolno żyjących. Bezpośrednią przyczyną zejścia zakażonych zwierząt jest uszkodzenie ściany jelita lub toksemia. Większość doniesień nt. zakażeń beztlenowcowych u lisów hodowlanych dotyczy intoksykacji i toksoinfekcji wywołanych przez *Clostridium botulinum*. W dostępnym piśmiennictwie niewiele jest informacji nt. występującej u lisów krwotocznej enteropatii, powodowanej mieszanym zakażeniem *Cl. perfringens* typu C i typu A.

**Cel badań:** Izolacja, identyfikacja i charakterystyka laseczek beztlenowych z ogniska naturalnych zakażeń u lisów srebrzystych, przebiegających wśród objawów krwotocznej enterotoksemii.

**Materiał i metody:** Badania wykonano w fermie lisów srebrzystych o obsadzie 160 samic i 45 samców stada podstawowego w wieku 1–4 lat. Na przełomie grudnia i stycznia w grupie 98 lisów stada podstawowego stwierdzono zachorowania o przebiegu nadostrym i ostrym z objawami obfitej pienistej biegunki z domieszką krwi oraz nasilającej się duszności, zaburzeniami oddychania i pracy serca. U 70 lisów objawy te prowadziły do nagłych padnięć w okresie 8–12 godzin od ich pojawienia się. Do badań laboratoryjnych pobrano wycinki narządów mięsnych, węzły chłonne, treść jelit oraz wysięk z jamy otrzewnowej, pochodzące od 12 losowo wybranych padłych zwierząt. Badany materiał posiewano na podłoże agarowe z krwią oraz podłoże różniące McConkeya i inkubowano w warunkach tlenowych. Równolegle badany materiał posiewano na stałe podłoże Wilson Blaira II, pożywkę Willis-Hobbsa oraz płynne podłoże Wrzoska i inkubowano w warunkach beztlenowych. Charakterystykę biochemiczną wyizolowanych szczepów bakterii wykonano przy użyciu komercyjnych zestawów API 20E i API 20A. Toksyny wykrywano metodą biologiczną na białych myszkach oraz metodą PCR. Do identyfikacji toksyn w próbie biologicznej wykorzystano metodę neutralizacji z użyciem antytoksyn. Wrażliwość na antybiotyki wyizolowanych szczepów *Cl. perfringens* oceniano poprzez określenie minimalnego stężenia hamującego (MIC) zgodnie z zaleceniami CLSI/NCCLS M11-A7.

**Wyniki i omówienie:** Badaniem bakteriologicznym od padłych lisów wyizolowano drobnoustroje należące do rodzaju *Clostridium*. Badanie biochemiczne potwierdziło przynależność izolowanych szczepów do gatunku *Cl. perfringens* typu C i typu A. Próba biologiczna na myszkach oraz metoda PCR wykazały zdolność badanych szczepów do produkcji toksyny alpha i beta. Wyizolowane szczepy cechowały się wysoką wrażliwością na amoksycylinę z kwasem klawulanowym, metronidazol, doksycylinę oraz penicylinę ze streptomycyną. Wyniki badań własnych wskazują, że zakażenia beztlenowcowe z udziałem *Cl. perfringens* typu A i C u lisów hodowlanych mogą być przyczyną zakażeń o ciężkim przebiegu, z wysokim współczynnikiem śmiertelności oraz powodujących duże straty ekonomiczne. Kolonizacja i namnażanie się tych drobnoustrojów w przewodzie pokarmowym oraz produkcja toksyn, prowadzące do uszkodzenia błony śluzowej, uwarunkowane są współdziałaniem licznych czynników predysponujących.

#### Piśmiennictwo:

[1] Songer J.G., 1996. Clostridial enteric diseases of domestic animals. Clin. Microbiol. Rev., 9, 216–234.





## PRZYPADEK ZARAŻENIA *CAPILLARIA PLICA* U DOMOWEJ ŚWINKI MORSKIEJ

### INFECTION *CAPILLARIA PLICA* IN A DOMESTIC GUINEA PIG – CASE REPORT

Anna Kołodziejka-Sawerska<sup>1</sup>, Andrzej Rychlik<sup>1</sup>, Mariusz Mirosław Michalski<sup>2</sup>, Rajmund Sokół<sup>2</sup>,  
Magdalena Szweda<sup>3</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Diagnostyki Klinicznej, Oczapowskiego 14, 10-719 Olsztyn, e-mail: a.kolodziejka4@wp.pl, <sup>2</sup>Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, <sup>3</sup>Katedra Patofizjologii, Weterynarii Sądowej i Administracji, Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn

Nicień *Capillaria plica*, syn. *Pearsonema plica* (Nematoda: Trichuroidea) jest pasożytem występującym w pęcherzu moczowym, moczowodach i miedniczkach nerkowych dzikich zwierząt mięsożernych [1, 2]. Głównym żywicielem ostatecznym jest prawdopodobnie lis [2]. Doniesienia na temat zarażeń *Capillaria plica* u zwierząt egzotycznych są sporadyczne, a faktyczna częstość tego typu przypadków pozostaje zwykle nieznaną.

Opisany przypadek przedstawia rozpoznanie zarażenia świnki morskiej nicieniem *Capillaria plica* ulokowanym w drogach moczowych.

**Materiał i metody:** 8-letni niekastrowany samiec świnki morskiej krótkowłosej został skierowany do Polikliniki Weterynaryjnej UWM w Olsztynie z powodu utraty wagi, osowiałości, trudności w oddawaniu moczu oraz biegunki trwającej kilka miesięcy. Badanie kliniczne wykazało zły stan ogólny, wychudzenie (masa ciała 700 g) oraz odwodnienie organizmu. W profilu biochemicznym surowicy stwierdzono podwyższony poziom mocznika, kreatyniny oraz obniżony poziom albumin. Mocz charakteryzował się ciężarem właściwym 1,017, odczynem pH 6 oraz obecnością białka. Badanie mikroskopowe osadu moczu wykazało obecność kilku owalnych, bezbarwnych jaj o grubej otoczce z tzw. guziczkami na obu biegunach rozpoznanych jako jaja *Capillaria plica*, dużą liczbę leukocytów z niewielką liczbą erytrocytów i komórek nabłonka przejściowego. Badaniem histopatologicznym stwierdzono śródmiąższowe zapalenie nerek, zwyrodnienie wodniczkowe oraz martwicę nabłonka komórek nerki. Pęcherz moczowy i miedniczka nerkowa wykazywały oznaki przewlekłego stanu zapalnego z naciekami komórek jednojądrowych w błonie podśluzowej. W świetle pęcherza moczowego stwierdzono obecność kilku jaj *Capillaria plica*.

**Wyniki i omówienie:** Doniesienia na temat zarażeń *Capillaria plica* u dzikich i udomowionych gatunków psowatych oraz kotowatych pojawiają się sporadycznie. W przebiegu zarażenia *Capillaria plica* może dojść do rozwoju krwimoczu, trudności w oddawaniu moczu lub częstomoczu z obecnością okresowych oznak zapalenia pęcherza moczowego. W opisanym przypadku zaobserwowano utrudnione oddawanie moczu. Jedynym narzędziem diagnostycznym pozwalającym przyżyciowo na wykrycie pasożytów *Capillaria plica* jest badanie osadu moczu. Ponieważ liczba wydalanych jaj ulega znacznym zmianom w kolejnych dniach, stąd czułość badania osadu moczu w celu rozpoznania zarażenia jest niska. W przypadku podejrzenia zarażenia lub konieczności potwierdzenia skuteczności leczenia należy wykonać więcej niż jedno badanie osadu. Analiza ogólna moczu może wykazać białkomocz i krwimocz. W badaniu mikroskopowym osadu moczu można stwierdzić leukocyty, erytrocyty oraz podwyższoną liczbę komórek nabłonka przejściowego. W naszym przypadku wykazano białkomocz, dużą liczbę leukocytów z niewielką liczbą erytrocytów i komórek nabłonka przejściowego.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Callegari D., Kramer L., Cantoni A.M., Di Lecce R., Dodi P.L., Grandi G., 2010. Canine bladderworm (*Capillaria plica*) infection associated with glomerular amyloidosis. *Veterinary Parasitology*, 168, 338–341.
- [2] Saeed C., Maddox-Hyttel J., Monrad C., Kapel M., 2006. Helminths of redfoxes (*Vulpes vulpes*) in Denmark. *Veterinary Parasitology*, 139, 168–179.



## WPŁYW KOMÓREK MACIERZYSTYCH POROŻA JELENIA NA PROCES GOJENIA SIĘ KOŚCI

### THE IMPACT OF STEM CELLS DERIVED FROM DEER ANTLER IN THE BONE HEALING PROCESS

Natalia Kościółek, Zdzisław Kiełbowicz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra i Klinika Chirurgii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: sun.flower@wp.pl

Tkanka kostna ma duże możliwości samoodnowy, jednak w przypadku większych ubytków kostnych potrzebna jest rekonstrukcja chirurgiczna. W chirurgii rekonstrukcyjnej istnieją już metody umożliwiające odbudowę tkanek w obrębie trzewioczaszki. Większość procedur opartych jest na autologicznych przeszczepach kości. Ponieważ żadna z nich nie daje w pełni zadowalających efektów i nie jest pozbawiona wad, poszukiwane są wciąż nowe rozwiązania. Jednym z nich jest próba zastosowania przeszczepów ksenogenicznych (obcogatunkowych) porożogennych komórek macierzystych. Komórki macierzyste, inaczej komórki pnia (ang. stem cells), są to komórki obdarzone zdolnością do samoodnowy i różnicowania się w inne typy komórek.

**Cel badania:** Porównanie działania wszczepu żywych komórek macierzystych, ich homogenatu oraz supernatantu na przebieg regeneracji ubytków kostnych u królików.

**Materiał i metody:** Badanie przeprowadzono na 30 królikach rasy kalifornijskiej, podzielonych na 4 grupy. Pierwszą grupę stanowiła grupa kontrolna składająca się z 6 królików. Grupy II, III i IV składały się z 8 królików każda. Przed przystąpieniem do doświadczenia u każdego królika zostało wykonane badanie radiologiczne żuchwy oraz badanie morfologiczne i biochemiczne krwi, a także badanie immunologiczne. Następnie u wszystkich królików wykonano nawierty w kości żuchwy za pomocą wiertła o średnicy 7 mm. U królików z grupy I na tym etapie zakończono procedurę. U królików z grupy II w ubytek żuchwy zaaplikowano Spongostan<sup>®</sup> nasączony macierzystymi komórkami porożogennymi, u królików grupy III Spongostan<sup>®</sup> z supernatantem, a u królików grupy IV Spongostan<sup>®</sup> z homogenatem. 7 dni po zabiegu od każdego operowanego królika pobrano ponownie krew na badanie immunologiczne. W 1., 2., 6. i 12. miesiącu po implantacji poddano eutanazji odpowiednio po 1 króliku z grupy kontrolnej i po dwa króliki z każdej z grup badawczych. Od każdego osobnika pobrano żuchwę do badania histologicznego i immunohistochemicznego, mających na celu porównanie zachodzących zmian w regeneracji kości w poszczególnych grupach królików. Przed wykonaniem eutanazji wykonano kontrolne zdjęcie rentgenowskie oraz badania biochemiczne, morfologiczne i immunologiczne.

**Wyniki i omówienie:** Badanie wykazało pozytywny wpływ na proces regeneracji kości z udziałem preparatów komórkowych. Ich zastosowanie skróciło czas procesu regeneracji i ujawniło lepszą jakość powstałej blizny kostnej w porównaniu z kośćmi gojącymi się samoistnie. Badania immunologiczne wykazały wprawdzie pozabiegowy wzrost białek ostrej fazy zapalnej, jednak po pierwsze nie był on zbyt duży, po drugie nie różnił się on znacząco od tego, jaki wystąpił u operowanych królików bez implantowanych komórek (grupa kontrolna). Na podstawie przeprowadzonego doświadczenia można wysnuć wniosek, że preparaty złożone z komórek macierzystych skracają w dużym stopniu proces regeneracji kości, a tym samym pozwalają na szybszy powrót pacjenta do prawidłowego funkcjonowania.

#### Pismiennictwo:

- [1] Cegielski M., Całoksiński I., Dzięgiel P., Gebarowski T., Podhorska-Okolow M., Zabel M., 2006. Search for stem cells in the growing antler stag (*Cervus elaphus*). Bull. Vet. Inst. Pulawy, 50, 247–251.



## DALSZE PRZYPADKI GRUŻLICY BYDLĘCEJ W STADZIE BIESZCZADZKICH ŻUBRÓW

### FURTHER CASES OF BOVINE TUBERCULOSIS IN BIESZCZADY BISON'S HERD

Monika Krajewska, Marek Lipiec

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: monika.krajewska@piwet.pulawy.pl

**Wstęp:** Gruźlica bydłęca wywołana prątkiem bydłęcym *Mycobacterium bovis* jest przewlekłą chorobą narządową. Charakterystyczne zapalenia ziarniniakowe przebiegają z tworzeniem się guzkowatych zmian (gruzelków gruźliczych) w miejscu wniknięcia zarazka i w okolicznych węzłach chłonnych (zespół pierwotny). Następnie w wyniku uogólnionej infekcji dochodzi do przewlekłej gruźlicy narządowej. Gruźlica w Polsce występuje głównie u bydła, ale co roku notowana jest również u zwierząt utrzymywanych w ogrodach zoologicznych, a także u wolno żyjących. Praca prezentuje problem gruźlicy bydłęcej w populacji żubrów w Bieszczadach. Pierwszy przypadek zdiagnozowania gruźlicy u jałówki miał miejsce w 1996 roku. W latach 2005–2008 w Bieszczadach badania nad występowaniem gruźlicy u dzikich zwierząt były prowadzone przez dr. Welza i współpracowników. Stwierdzono wtedy gruźlicę u żubrów, wilków oraz u borsuka. Od 2010 r. diagnostyką gruźlicy wśród bieszczadzkich żubrów zajmuje się Zakład Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach.

**Materiał i metody:** Opis przypadku 1: W marcu 2010 r. Podkarpacki Wojewódzki Lekarz Weterynarii przysłał do badania narządy krowy żubra: wątrobę, śledzionę oraz węzły chłonne. Zwierzę zostało znalezione martwe na terenie powiatu bieszczadzkiego. Zmiany anatomopatologiczne wskazywały na uogólnioną przewlekłą gruźlicę narządową. Opis przypadku 2: W marcu 2011 r. Podkarpacki Lekarz Weterynarii przysłał do badania kolejne narządy od 2 sztuk żubrów. Jedno zwierzę zostało znalezione martwe w okolicy miejscowości Sokolniki na terenie powiatu bieszczadzkiego, natomiast drugie poddano odstrzałowi sanitarnemu w tej samej okolicy. W obydwu przypadkach zmiany anatomopatologiczne wskazywały na uogólniony proces gruźlicy narządowej. Materiał do badań bakteriologicznych stanowiły tkanki żubrów, które zostały opracowane zgodnie z Instrukcją Głównego Lekarza Weterynarii w celu uzyskania osadu do posiewów na podłoża hodowlane (Stonenbrinka, Petragnaniego i Loewensteina – Jensena). Dodatkowo, w przypadku pierwszego żubra wykonano badanie testem GenoType MTBC Hain Lifescience (Niemcy) w celu określenia podgatunku.

**Wyniki i omówienie:** We wszystkich trzech przypadkach wyhodowany szczep sklasyfikowano jako *Mycobacterium bovis*. Badania naukowe wykonane dla szczepu wyizolowanego od żubra z 2010 r. pozwoliły określić jego podgatunek – *caprae*. W 2012 r. do Referencyjnego Laboratorium Gruźlicy Bydła zostały przesłane materiały tkankowe od 6 sztuk żubrów pochodzących z tego samego stada „Górny San”, co wcześniej opisywane trzy przypadki. Badania nad tą populacją są w toku. Wszystko wskazuje jednak, że stado to jest całkowicie objęte chorobą, a kwestią czasu jest badanie kolejnych prób od zwierząt padłych. Zakażeniu w tym regionie sprzyjają wzajemne kontakty bydła i żubrów, które zdarzają się na pastwiskach i łąkach, jak i brak nadzoru nad migracją żubrów między Polską a Ukrainą w tym rejonie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Krajewska M., Lipiec M., Szulowski K., 2011. Bovine tuberculosis in bison (*Bison bonasus caucasicus*) located in Poland. Post. Nauk Med., tom XXIV, nr 10, 842–845.
- [2] Żórawski C., Lipiec M., 1997. Przypadek uogólnionej gruźlicy u żubra. Med. Wet., 53 (2), 90–92.
- [3] Żórawski C., Lipiec M., 1998. Infekcja *Mycobacterium bovis* u żubra. Med. Wet., 54 (3), 178–80.



## WYSTĘPOWANIE NICIENI *ELAPHOSTRONGYLUS CERVI* U JELENI W RÓŻNYCH REJONACH POLSKI

### OCCURRENCE OF NEMATODES *ELAPHOSTRONGYLUS CERVI* IN RED DEER IN DIFFERENT REGIONS OF POLAND

Izabela Kuligowska

Polska Akademia Nauk, Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego, ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa,  
e-mail: kuligowska@twarda.pan.pl

*Elaphostrongylus cervi* jest nicieniem z rodziny Protostrongylidae, pasożytem jeleni tkanki łącznej między-mięśniowej i ośrodkowego układu nerwowego, występującym w Europie i Azji.

**Cel badań:** Ustalenie rozprzestrzenienia nicienia *E. cervi* na terenie Polski, gdyż dotychczas dysponowaliśmy nielicznymi informacjami.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki kału jeleni uzyskane z nadleśnictw o licznej populacji tych zwierząt. Zbadano 97 prób kału pochodzących z 13 nadleśnictw, które są zlokalizowane na terenie 8 województw: województwa pomorskiego (Nadleśnictwo Trzebielino), województwa zachodniopomorskiego (Nadleśnictwo Chojna, Nadleśnictwo Kliniska i Nadleśnictwo Połczyn), województwa lubelskiego (Nadleśnictwo Tomaszów Lubelski, Nadleśnictwo Zwierzyniec i Nadleśnictwo Lubartów), województwa małopolskiego (Nadleśnictwo Dąbrowa Tarnowska), województwa podkarpackiego (Nadleśnictwo Lutowiska i Nadleśnictwo Rudnik), województwa pomorsko-kujawskiego (Nadleśnictwo Tuchola), województwa dolnośląskiego (Nadleśnictwo Ruzów), województwa lubuskiego (Nadleśnictwo Bytnica). Z próbek kału odważano po 5 g, następnie umieszczano je w aparacie Baermanna na 24 godziny. Z kolei badano na obecność larw I stadium *E. cervi* przy użyciu mikroskopu stereoskopowego i ustalano ekstensywność oraz intensywność inwazji.

**Wyniki i omówienie:** We wszystkich 13 nadleśnictwach stwierdzono w próbkach kału badanych jeleni larwy I stadium *E. cervi*. W województwie pomorskim ekstensywność inwazji *E. cervi* wynosiła 87,5% w Nadleśnictwie Trzebielino, a w województwie zachodniopomorskim: 80% w Nadleśnictwie Chojna, 85,7% w Nadleśnictwie Kliniska i 90% w Nadleśnictwie Połczyn. W województwie lubelskim ekstensywność inwazji omawianego nicienia była nieco niższa w Nadleśnictwie Tomaszów Lubelski (66,7%), a najwyższa w nadleśnictwach Zwierzyniec i Lubartów, gdzie osiągnęła 100%. W województwie małopolskim w Nadleśnictwie Dąbrowa Tarnowska ekstensywność inwazji wynosiła 75%, w województwie podkarpackim: w Nadleśnictwie Rudnik 80%, a w Nadleśnictwie Lutowiska 100%. W województwie pomorsko-kujawskim *E. cervi* również występował u 100% badanych zwierząt w Nadleśnictwie Tuchola. W województwie dolnośląskim w Nadleśnictwie Ruzów ekstensywność zarażenia jeleni nicieniami *E. cervi* wynosiła 90%, a w województwie lubuskim w Nadleśnictwie Bytnica aż 100%. Intensywność inwazji mierzona liczbą larw uzyskanych z 5 gramów kału wahała się w poszczególnych nadleśnictwach od 1 do 848 larw. W niniejszych badaniach ustalono 13 nowych stanowisk nicienia *E. cervi*. Zarejestrowanie tych nicieni zarówno w Polsce wschodniej, zachodniej, północnej i południowej pozwala stwierdzić, iż pasożyt ten występuje powszechnie na terenie całego kraju.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Demiaszkiewicz A.W., 1987. Skład gatunkowy oraz ekstensywność inwazji jeleniowatych w wybranych łowiskach przez nicienie z rodziny Protostrongylidae. Wiad. Parazyt., 33, 57–62.



## ZMIENNOŚĆ GENETYCZNA KRAJOWYCH SZCZEPÓW WIRUSA MYKSOMATOZY KRÓLIKÓW

### THE GENETIC DIVERSITY OF POLISH STRAINS OF RABBIT MYXOMA VIRUS

Ewa Kwit, Marta Chrobocińska, Ewelina Bigoraj

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii Żywności i Środowiska,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: ewa.kwit@piwet.pulawy.pl

Myksomatoza królików to zakaźna i zaraźliwa choroba, jedna z najgroźniejszych chorób wirusowych tego gatunku zwierząt. Chociaż od wielu lat stosowane szczepienia profilaktyczne, opisywane są przypadki występowania ognisk choroby w hodowlach królików oraz pojawiania się nietypowego przebiegu myksomatozy. Pomimo wysokiej konserwatywności genomu wirusa myksomatozy obserwowano zmiany w niektórych genach w szczepach wykazujących różny stopień zjadliwości i atenuowanych [1, 2].

**Cel badań:** Analiza zmian genetycznych 11 szczepów, pochodzących z przypadków terenowych z lat 1991–2011.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły wycinki skóry padłych lub uśpionych królików wykazujących zmiany skórne charakterystyczne dla myksomatozy. Z homogenatów próbek izolowano DNA i metodą PCR amplifikowano fragmenty 6 wybranych genów. W wyborze analizowanych regionów genomu uwzględniono geny, dla których we wcześniejszych publikacjach opisywano występowanie mutacji. Uzyskane w wyniku reakcji produkty poddano sekwencjonowaniu. Otrzymane sekwencje nukleotydowe i przewidywane sekwencje aminokwasowe zestawiono w programie Clustal W2. Wyniki porównano z sekwencjami szczepów zagranicznych, umieszczonymi w GenBank lub zmianami opisanymi w dostępnych publikacjach.

**Wyniki i omówienie:** Wstępne badania sekwencji nukleotydowej fragmentów wybranych 6 genów wykazały obecność mutacji punktowych. Niektóre z nich powodowały substytucje w przewidywanej sekwencji aminokwasowej. Na podstawie przeprowadzonej analizy porównawczej sekwencji 11 krajowych szczepów stwierdzono występowanie tych samych mutacji nukleotydowych i substytucji aminokwasowych w 5 izolatach w 5 z 6 badanych genów w porównaniu ze standardowym zjadliwym szczepem Lausanne. Próby te pochodziły z różnych regionów Polski z lat 1991, 1993, 1997, 2001 i 2011 i być może reprezentują jeden szczep, co mogłoby świadczyć o dużej jego stabilności w środowisku. Pozostałych 6 izolatów wykazywało pojedyncze mutacje w sekwencji nukleotydów i substytucje w sekwencji aminokwasowej w różnych genach. Analiza zmian sekwencji nukleotydowych i aminokwasowych w badanych genach wskazuje na zróżnicowanie między tymi szczepami, jak również wobec szczepu Lausanne. Niektóre zmiany nukleotydów i aminokwasów występujące w sekwencjach szczepów krajowych obserwowano również w sekwencjach szczepów zagranicznych dostępnych w bazie danych GenBank lub opisane w publikacjach [1, 2]. Przeprowadzone badania wstępne wykazały występowanie różnic genetycznych w badanych szczepach krajowych wirusa myksomatozy królików, chociaż stopień zróżnicowania szczepów wymaga dalszych badań.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Muller A., Silva E., Abrantes J., Esteves P.J., Ferreira P.G., Carvalheira J.C., Nowotny N., Thompson G., 2010. Partial sequencing of recent Portuguese myxoma virus field isolates exhibits a high degree of genetic stability. *Vet. Microbiol.*, 140, 161–166.
- [2] Dalton K.P., Nicieza I., Baragano A., Alonso J.M.M., Parra F., 2010. Molecular characterisation of virulence graded field isolates of myxoma virus. *Virol. J.*, 7:49.





## DYNAMIKA INWAZJI NICIENI *ASHWORTHIIUS SIDEMI* U ŻUBRÓW W PUSZCZY BIAŁOWIESKIEJ

### DYNAMICS OF INVASION OF NEMATODES *ASHWORTHIIUS SIDEMI* IN EUROPEAN BISON IN BIALOWIEZA PRIMEVAL FOREST

Jacek Lachowicz<sup>1</sup>, Aleksander Wieczesław Demiaszkiewicz<sup>1</sup>, Izabela Kuligowska<sup>1</sup>,  
Anna Maria Pyziel<sup>1</sup>, Barbara Osińska<sup>2</sup>

Polska Akademia Nauk <sup>1</sup>Institut Parazytologii im. Witolda Stefańskiego, Zakład Epizootiologii i Patologii,  
Pracownia Parazytoz Zwierząt Dzikich, ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa, e-mail: lachowic@twarda.pan.pl

<sup>2</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, ul. Nowoursynowska 159c,  
02-776 Warszawa

*Ashworthius sidemi* Schulz, 1933 (Trichostrongylidae, Haemonchidae) jest to krwio pijnym nicieniem lokalizującym się w przewodzie pokarmowym w trawieńcu i dwunastnicy. Jest pasożytem pierwotnie występującym u azjatyckich jeleniowatych, głównie u sambara (*Cervus unicolor*), jelenia sika (*Cervus nippon*) i azjatyckich podgatunków jelenia szlachetnego np. marala (*Cervus elaphus sibiricus*). Z tymi gatunkami jeleni pasożyt ten został introdukowany do europejskiej części Rosji oraz innych krajów europejskich, w tym do Francji, Czech, Słowacji, Ukrainy, Białorusi. W nowych krajach skolonizował miejscowe gatunki dzikich przeżuwaczy, takie jak jeleń szlachetny, sarna, łoś, jeleń sika i muflon oraz żubr. W Polsce został po raz pierwszy stwierdzony w 1997 r. u czterech żubrów w Bieszczadach, a w 2000 r. w Białowieży.

**Materiał i metody:** W latach 2003–2011 wykonano sekcje parazytologiczne 144 żubrów odstrzelonych w Puszczy Białowiejskiej w trakcie odstrzałów selekcyjnych. Z pobranych od nich trawieńców i dwunastnic w laboratorium wybrano i oznaczono do gatunku występujące tam nicienie *A. sidemi*.

**Wyniki i omówienie:** W trakcie badań stwierdzono, że ekstensywność zarażenia żubrów już w 2004 r. osiągnęła 100% i utrzymuje się na tym poziomie do chwili obecnej, a średnia intensywność systematycznie wzrastała od 1176 w 2003 r. do 12010 osobników w 2010 r. z wyjątkiem 2008 r. (6545). W ostatnim sezonie 2011 zaobserwowano znów spadek intensywności zarażenia do 2138 osobników *A. sidemi*. Ważnym i znaczącym jest fakt, że inwazje *A. sidemi* u przedstawicieli Cervidae utrzymują się na względnie stałym poziomie kilkuset osobników i nie wywołują widocznych makroskopowo zmian patologicznych, natomiast u żubrów – przedstawicieli rodziny Bovidae, które w zetknięty się z tym pasożytem dopiero niedawno, intensywność inwazji narasta lawinowo, wywołując zauważalne zmiany patologiczne.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Drózd J., Demiaszkiewicz A.W., Lachowicz J., 2002. Przeniknięcie azjatyckiego pasożyta dzikich przeżuwaczy *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae) na teren białoruskiej i polskiej części Puszczy Białowiejskiej. Działalność Naukowa PAN, Wybrane Zagadnienia, 13, 63–64.
- [2] Drózd J., Demiaszkiewicz A.W., Lachowicz J., 2003. Expansion of the Asiatic parasite *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae) in wild ruminants in Polish territory. Parasitology Research, 89, 94–97.
- [3] Demiaszkiewicz A.W., Lachowicz J., Osińska B., 2008. Ustalenie zasięgu ognisk aswortiozy dzikich i domowych przeżuwaczy we wschodniej i południowej Polsce. Wiadomości Parazytologiczne, 54, 217–219.
- [4] Demiaszkiewicz A.W., Lachowicz J., Osińska B., 2009. *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae) in wild ruminants in Białowieża Forest. Polish Journal of Veterinary Sciences, 12, 385–388.
- [5] Osińska B., Demiaszkiewicz A.W., Lachowicz J., 2010. Pathological lesions in European bison (*Bison bonasus*) with infestation by *Ashworthius sidemi* (Nematoda), Demiaszkiewicz A. W., Lachowicz J., Osińska B., 2009. *Ashworthius sidemi* (Nematoda, Trichostrongylidae). Polish Journal of Veterinary Sciences, 13, 63–67.



## METODY ZAPOBIEGANIA POOPERACYJNYM, ŚRÓDBRZUSZNYM ZROSTOM U KRÓLIKÓW. PORÓWNANIE DZIAŁANIA PREPARATÓW DOOTRZEWNOWYCH

## PREVENTION METHODS OF POSTOPERATIVE INTRA-ABDOMINAL ADHESIONS IN RABBITS. COMPARISON OF INTRAPERITONEAL PREPARATIONS

Małgorzata Legień<sup>1</sup>, Kornel Ratajczak<sup>1</sup>, Stanisław Dzimira<sup>2</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra i Klinika Chirurgii, <sup>2</sup>Katedra Patologii, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław, e-mail: margaret.legien@gmail.com

Zrosty pooperacyjne są konsekwencją uszkodzenia powierzchni tkanek, mogą powstać w następstwie cięcia chirurgicznego, kauteryzacji, szycia, lub innych uszkodzeń. Zrosty otrzewnowe tworzą się pomiędzy narządami, które w normalnych warunkach są od siebie oddzielone oraz/lub pomiędzy narządami a wewnętrzną ścianą jamy brzusznej, po uszkodzeniu otrzewnej. W efekcie dochodzi do groźnych powikłań, tj. atonii, zapętleń, niedrożności jelit cienkich, martwicy lub perforacji jelit, także śmierci pacjenta.

**Cel badań:** Znalezienie najskuteczniejszego preparatu podanego dootrzewnowo pod koniec zabiegu, który zastosowany łącznie z odpowiednią techniką chirurgiczną zapobiegnie tworzeniu się zrostów.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na królikach rasy nowozelandzkiej. Króliki podzielono na trzy grupy: 1 kontrolną, 2 i 3 grupy leczone. U wszystkich zwierząt przeprowadzono laparotomię i uszkodzono otrzewną za pomocą wybranej metody. Zwierzęta grupy kontrolnej pozostawiono bez leczenia, tzn. do jamy brzusznej przed jej zamknięciem nie wprowadzono jakiegokolwiek leku. W grupach leczonych do jamy brzusznej podano odpowiednio następujące leki: grupa 2 – 6% Dextran 70 000, grupa 3 – meloksikam. Po czterech dniach od zabiegu laparotomii przeprowadzono badanie ultrasonograficzne jamy brzusznej, pod kątem obecności powstałych zrostów. Następnie zwierzęta poddano eutanazji. Jamę brzuszną oceniono makroskopowo według 5-stopniowej skali, pod kątem obecności zrostów, obszarów ich występowania, grubości i szerokości. Uszkodzone i objęte zrostami fragmenty tkanek zostały wycięte i zbadane histologicznie. Przeprowadzono standardowe barwienie hematoksyliną i eozyną materiału tkankowego, w celu oceny obecności lub braku histologicznych śladów zrostów błony surowiczej. Oceniane były: proces zwłóknienia, zapalenia otrzewnej oraz odpowiedź komórek olbrzymich.

**Wyniki i omówienie:** Zastosowane środki należą do dwóch różnych grup preparatów ograniczających powstawanie zrostów. Sposób działania dextranu polega na silnym efekcie osmotycznym, powodującym przenikanie płynów z tkanek do jamy brzusznej. Dzięki temu chronione są miejsca otrzewnej pozbawione nabłonka, które szybciej ulegają odnowie. Kolejnym użytym środkiem był meloksikam, niesterydowy lek przeciwzapalny z grupy oksykamów. Ich działanie polega na zmniejszeniu pośrednich produktów metabolizmu kwasu arachidonowego i tym samym hamowaniu intensywności odczynu zapalnego w obrębie uszkodzonej otrzewnej oraz tworzeniu się włóknikowego podścieliska. W porównaniu z grupą kontrolną zwierząt zastosowane u grup leczonych preparaty z podobną efektywnością ograniczyły stopień występowania zrostów otrzewnowych. Dzięki badaniu ultrasonograficznemu jamy brzusznej wypełnionej płynem możliwe było ustalenie występowania lub braku zrostów w otrzewnej. Uzyskane wyniki potwierdzone zostały rezultatami badań makroskopowych i histologicznych. U leczonych zwierząt makroskopowo obserwowano brak lub zmniejszenie rozległości i grubości zrostów otrzewnowych. Na ograniczenie intensywności procesów zrostowych wykazały także badania histologiczne. Odpowiednia technika chirurgiczna wraz z wyżej przedstawionymi lekami podanymi dootrzewnowo może być skutecznym sposobem zapobiegania zrostom pooperacyjnym.

### Piśmiennictwo:

- [1] Kamel R.M., 2010. Prevention of postoperative peritoneal adhesions. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 150, 111–118.



## GRUŻLICA BYDŁĘCA W OGRODACH ZOOLOGICZNYCH W POLSCE

## BOVINE TUBERCULOSIS IN ZOO GARDENS IN POLAND

Marek Lipiec, Monika Krajewska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, e-mail: mlipiec@piwet.pulawy.pl

Gruźlica bydłęca jest zakaźną chorobą bydła występującą głównie u bydła. Ograniczenie rozprzestrzeniania się gruźlicy bydłowej w stadach bydła było możliwe po stosowaniu przez szereg lat ściśle określonych przepisów. W 2009 r. Polska została uznana za kraj wolny od gruźlicy bydłowej, wskutek ograniczenia liczby ognisk i liczby zwierząt chorych w hodowli bydła. Występowanie gruźlicy wywołanej przez prątką typu bydłowego nie ogranicza się jednak tylko do bydła. Choroba może występować u szeregu innych gatunków zwierząt, także u zwierząt dzikich i utrzymywanych w ogrodach zoologicznych.

**Cel pracy:** Określenie aktualnej sytuacji epidemiologicznej w zakresie gruźlicy bydłowej w ogrodach zoologicznych w Polsce na podstawie wyników badań laboratoryjnych prowadzonych w Laboratorium Referencyjnym Gruźlicy w Zakładzie Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach w latach 2008–2011.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły próbki pochodzące od zwierząt z ogrodów zoologicznych w Polsce. Próbki te pochodziły od zwierząt padłych z różnymi objawami lub uśpionych w przypadku braków postępów leczenia objawowego. Łącznie w latach 2008–2011 badano próbki pochodzące od 35 zwierząt kilkunastu gatunków z 5 ogrodów zoologicznych.

W laboratorium PIWet-PIB próbki poddawano badaniom anatomopatologicznym, mikroskopowym (barwienie Ziehl-Neelsena), a także hodowlanym ze wstępnym przygotowaniem materiału przy użyciu 5% kwasu szczawiowego oraz posiewach na podłoża Loewensteina-Jensena, Petragianiego i Stonebrinka. Jednocześnie wykonywano także próbę biologiczną na świnkach morskich, zaś wyodrębnione szczepy klasyfikowano przy użyciu zestawów Genotype firmy Hain Lifescience.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach dostępnych próbek narządów i węzłów chłonnych stwierdzono łącznie 14 wyników dodatnich. Najwięcej wyników dodatnich (wyodrębnienie *Mycobacterium bovis*) wykazano w grupie antylop (8 przypadków). Ponadto wyniki dodatnie stwierdzano także u żyraf (2), alpaka (2), tapira i kangura. W badaniach wyodrębniono również dwa szczepy prątków kwasoopornych, które określono jako *Mycobacterium avium*. Wyodrębnienie prątków typu ptasiego było naturalne w przypadku infekcji u kazuara, jednakże obecność prątków tego typu zanotowano także w próbkach pochodzących od jeżozwierza oraz kangura.

Przedstawione wyniki badań świadczą, że gruźlica wywołana przez typ bydłowy prątką jest również obecna w środowisku wielu ogrodów zoologicznych. Choroba stanowi istotne niebezpieczeństwo dla licznych gatunków zwierząt oraz jest przyczyną dużych strat ekonomicznych, gdyż atakuje także cenne i rzadkie gatunki zwierząt. Bezpośredni kontakt tych zwierząt z osobami z obsługi oraz z licznie zwiedzającymi stwarza istotne niebezpieczeństwa przeniesienia choroby na ludzi. Możliwość likwidacji choroby poprzez leczenie jest możliwa jedynie u niewielkich i cennych osobników. Większość zwierząt podlega eliminacji z ogrodu. Kontrola występowania choroby jest możliwa u zwierząt przebywających w ogrodach przy zastosowaniu testów tuberkulinowych (u gatunków antylop, alpaka, owiec), a w przypadku niemożliwości ich zastosowania – testu gamma interferonowego, ELISA (u gatunku bydło z rodziny krętorogich) lub specjalistycznych testów dla poszczególnych gatunków ssaków. Testy te winny być wykonywane okresowo, np. co 6–12 miesięcy tak, aby zminimalizować rozwój choroby i przypadki śmierci zwierząt w ogrodach zoologicznych z tego powodu. Szczególną uwagę należy zwrócić na dezynfekcję otoczenia zwierząt preparatami prątkobójczymi

**Piśmiennictwo:**

- [1] Lipiec M., 2011. Metody i testy stosowane w praktyce do rozpoznawania zakażeń prątkami kwasoopornymi u zwierząt domowych i dzikich. Wyd. PIWet-PIB, Puławy.
- [2] Pavlik I. et al., 2002. Incidence of bovine tuberculosis in wild and domestic animals other than cattle in six Central European countries during 1990–1999. Vet. Med. – Czech, 47, 122.



## NAJCZĘSTSZE CHOROBY UKŁADU ROZRODCZEGO SAMIC AFRYKAŃSKIEGO JEŻA BIAŁOBRZUCHEGO *ALTERIX ALBIVENTRIS*

### THE MOST COMMON DISEASES OF FEMALE REPRODUCTIVE SYSTEM AFRICAN PYGMY HEDGEHOG *ALTERIX ALBIVENTRIS*

Aleksandra Maluta

Przychodnia Weterynaryjna, Szpital Zwierząt Egzotycznych „OAZA”, ul. Potocka 4, Warszawa 01-652,  
e-mail: amaluta@wp.pl

**Wstęp:** Od kilku lat jeże białobrzuche *Alterix albiventris* zdobywają popularność w Polsce jako zwierzęta towarzyszące. Na rynku dostępnych jest wiele odmian barwnych. W związku z dużym zapotrzebowaniem na młode w naszym kraju zaczyna rozwijać się hodowla tego gatunku.

**Cel pracy:** Zdiagnozowanie najczęstszych chorób układu rozrodczego samic wpływających na ich płodność i plenność, a także przeżywalność młodych.

**Materiał i metody:** Badaniom klinicznym w premedykacji przy użyciu mieszanki ketaminy z ksylazyną poddano 9 samic różnych odmian barwnych w wieku od 8 miesięcy do 7 lat, u których właściciele zaobserwowali trudności z zachodzeniem w ciążę, upadki młodych, brak apetytu, wydzielinę w okolicy sromu. W dwóch przypadkach przeprowadzono zabieg ovariohisterectomii. Ponadto przeprowadzono 5 badań sekcyjnych. Macice wraz z jajnikami pobrane śródoperacyjnie i podczas badań sekcyjnych zostały utrwalone w roztworze formaliny i poddane badaniom histopatologicznym.

**Wyniki:** W przypadku 6/7 badanych histopatologicznie macic stwierdzono od niewielkiej ilości do licznych torbieli w endometrium, ściany macic były pogrubiałe. Wykazano nacieki komórek stanu zapalnego w endometrium i myometrium świadczące o przewlekłym stanie zapalnym. W jednym przypadku stwierdzono ropny stan zapalny, z dużą ilością wydzielin oraz obecność cyst na prawym jajniku. W badaniu klinicznym u 2 samic wykazano zapalenie jednego z gruczołów mlekowych. Ponad to u samic powyżej 3. roku życia stwierdzono obecność kamienia nazębnego i towarzyszące temu zapalenie dziąseł. Nasilenie zmian było różne. U badanych zwierząt nie zarejestrowano zmian nowotworowych.

**Dyskusja:** Jeże ze względu na swą anatomię i zachowania obronne są trudnymi do badania pacjentami, często także właściciele mają problemy z zaobserwowaniem zmian chorobowych. Wydaje się, że u samic intensywnie używanych do rozrodu rozwija się drobnotorbielowate zapalenie macicy, w efekcie którego spada płodność i plenność. Samice, których część młodych padło tuż po porodzie i te, które odchowują 1–2 młode, mają predyspozycje do stanów zapalnych gruczołów mlekowych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Bedford J.M., Mock O.B., Nagdas S.K., Winfrey V.P., Olson G.E., 2000. Reproductive characteristics of African pygmy hedgehog, *Alterix albiventris*; *Journal of Reproduction and Fertility*, 120, 143–150.
- [2] Phillips I.D. Taylor J.J. Allen A.L., 2005. Endometrial polyps in 2 African pygmy hedgehogs; *Can Vet. J.* 46, 524–527.
- [3] Raymond J.T, Garner M., 2000. Mammary Gland Tumors, [in:] *Captive african Hedgehogs; Jurnal of Wildlife Diseases*, 36(2), 405–408.
- [4] Wellehan J.F.X., Southorn E., Smith D.A., Taylor W.M., 2003. Surgical removal of a mammary adenocarcinoma and a granulosa cell tumor in an African pygmy hedgehog; *Can. Vet. J.*, 44, 235–237.



WYKRYWANIE SPOR *NOSEMA SPP.* U ROBOTNIC I W ICH POKARMIEDETECTION OF *NOSEMA SPP.* SPORES IN WORKER BEES AND IN THEIR FEED

Maria Michalczyk, Rajmund Sokół, Paweł Niczyj

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: maria.michalczyk@uwm.edu.pl

*Nosema apis* i *Nosema ceranae* należą do organizmów jednokomórkowych, które stanowią wyodrębnioną grupę grzybów. Powodują u pszczoł nosemozę uważaną za jedną z najbardziej rozpowszechnionych na świecie chorób pszczoły miodnej (*Apis mellifera*).

W literaturze niewiele jest danych na temat źródeł spor *Nosema spp.* dla pszczoł oraz dróg ich transmisji. Stwierdzono, że jednym z nich może być pyłek kwiatowy, który jest podstawowym pokarmem dla młodych pszczoł lub pierzga – zakonserwowany przez robotnice w komórkach plastrów pyłek kwiatowy oraz woda.

**Cel badań:** Wykrycie spor *N. apis* i *N. ceranae* u robotnic z dwóch kast oraz w pokarmie przynoszonym przez robotnice i zgromadzonym w ulu w trakcie sezonu pasiecznego.

**Materiał i metody:** Wiosną 2011 r. w 30-pniowej pasiece po zbadaniu osypów zimowych pszczoł na obecność *Nosema spp.* metodą mikroskopową do dalszych badań (kwiecień – wrzesień) wytypowano 5 rodzin pszczelich zainfekowanych sporowcami (1,2 mln spor na robotnicę). W odstępach miesięcznych z każdej rodziny pobierano po 20 robotnic ulowych bezpośrednio z plastrów, 20 robotnic z wylotka z pyłkiem, 5 próbek świeżego pyłku w postaci obnóży od przylatujących pszczoł oraz po 5 gramów pierzgi zgromadzonej w komórkach plastrów. Pobrane próby badano metodą multiplex PCR wg procedury OIE.

**Wyniki:** Stwierdzono, że u pszczoł ulowych i lotnych w kwietniu dominowała infekcja mieszana (*N.a./N.c.*). Natomiast w maju u pszczoł ulowych wykazano infekcję *N. ceranae*, a u pszczoł lotnych infekcję mieszaną. W czerwcu w trzech próbach pszczoł ulowych nie stwierdzono infekcji, a w pozostałych spory *N. apis*. U pszczoł lotnych w tym okresie dominowała infekcja mieszana. W lipcu w obu badanych grupach pszczoł dominowała infekcja *N. ceranae*. Natomiast w sierpniu u pszczoł ulowych ponownie w 3 rodzinach nie stwierdzono infekcji, a u pszczoł lotnych dominowała infekcja mieszana. We wrześniu w obu badanych kastach robotnic dominowała infekcja mieszana.

W badanych próbach pyłku przynoszonego przez robotnice w całym sezonie pasiecznym odnotowano tylko w jednej rodzinie w maju i jednej w czerwcu obecność spor *N. ceranae*.

W badanych próbach pierzgi na początku sezonu dominowała infekcja mieszana, a w pojedynczych próbach w maju i czerwcu wykazano obecność spor *N. ceranae*, a we wrześniu w jednej rodzinie spor *N. apis*. Znamienne, że w lipcu i sierpniu nie stwierdzono w pierzdze spor.

**Omówienie:** Sporowce z rodzaju *Nosema spp.* są patogenem stanowiącym poważne zagrożenie dla rodziny pszczelej. Naukowcy uważają, że obecność spor *Nosema* w pyłku i w pierzdze spowodowana jest przez samozakażenie podczas zbierania pyłku. Dochodzi do niego podczas zlizywania ziaren pyłku, ponieważ zwilżanie pokarmu jest niezbędne, a wcześniej wykazano obecność spor w gruczołach ślinowych. Pyłek przechowywany w komórkach plastrów w postaci pierzgi zainfekowany podczas zbierania może stanowić źródło infekcji dla kolejnych pokoleń pszczoł. Wykazanie obecności spor i określenie ich przeżywalności w pierzdze ma duże znaczenie dla szerzenia się choroby w rodzinie pszczelej. W naszych badaniach wykazaliśmy, że pyłek, a częściej pierzga mogą być źródłem spor, tak samo jak robotnice (pszczoły lotne), które zbierają i dostarczają pyłek do ula.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Higes M., Martín-Hernández M., Garrido-Bailón, García-Palencia P., Meana A., 2008. Detection of infective *Nosema ceranae* (Microsporidia) spores in corbicular pollen of forager honeybees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 97, 76–78.





## WPŁYW STRESU ZWIĄZANEGO Z ODŁAWIANIEM I TRANSPORTEM NA WYNIKI BADAŃ MORFOLOGICZNYCH I BIOCHEMICZNYCH KRWI U DZIKÓW (*SUS SCROFA*)

### EFFECT OF STRESS CAUSED BY CATCHING AND TRANSPORTING ON MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL BLOOD TESTS RESULTS IN BOARS (*SUS SCROFA*)

Józef Nicpoń, Piotr Sławuta, Jakub Nicpoń, Roman Kołacz

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław, e-mail:piotr.slawuta@up.wroc.pl

**Wstęp:** Badania stanu zdrowia zwierząt nieudomowionych, podobnie jak ich introdukcja, są z reguły związane z koniecznością ich odłowienia, okresowego unieruchomienia i czasami przewiezienia w inne miejsce. Dla zwierząt nieudomowionych cała procedura związana z odłowami jest oczywiście bardzo stresująca i w połączeniu z koniecznością transportu może spowodować zmianę w badanych parametrach krwi.

**Cel badań:** Stwierdzenie, czy odłowy i transport wpływają na wyniki badań morfologicznych i biochemicznych krwi.

**Materiał i metody:** Badaniami objęto 22 dorosłe dziki obu płci, które ze względu na konieczność przeprowadzenia badań naukowych odłowiono ze środowiska naturalnego i przetransportowano do Ośrodka Badań Środowiska Leśnego i Chorób Zwierząt Łownych Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Odłowy przeprowadzono według standardowej procedury, podając poszczególnym osobnikom mieszaninę anestetyków: medetomidyny ( $1000 \mu\text{g}/\text{m}^2$ ), midanium ( $0,15 \text{ mg}/\text{kg mc}$ ) i ketaminy ( $10 \text{ mg}/\text{kg mc}$ ) podanych w jednej strzykawce za pomocą pneumatycznej strzelby Palmera. Podane środki zaczynały działać zwykle po 10 min od chwili trafienia. Oszołomione dziki umieszczano w klatkach przystosowanych do transportu zwierząt, których długość, szerokość i wysokość wynosiły odpowiednio 150/75/100 cm. Po przywiezieniu na teren Ośrodka (około 200 km) zwierzętom podano opisaną wcześniej mieszaninę anestetyków w identycznych dawkach i pobierano krew z żyły szyjnej zewnętrznej. Po upływie 48 godz. ponownie pobrano krew, podając uprzednio środki farmakologiczne w identycznych dawkach i według identycznej procedury – jedyną różnicą był brak transportu. W pobranym materiale wykonano badania morfologiczne wraz z rozmazem oraz oznaczono parametry biochemiczne krwi i stężenie elektrolitów. Otrzymane od tych samych zwierząt wyniki podzielono na dwie grupy – grupa I to wartości otrzymane od dzików poddanych działaniu stresu związanego z odłowami, działaniem anestetyków i transportem, natomiast grupę II stanowiły wyniki zwierząt odławianych, uspokajanych farmakologicznie, ale nie poddanych transportowi.

**Wyniki i omówienie:** Wyniki badań hematologicznych w grupie I i II nie różniły się wzajemnie i nie odbiegały od normy przyjętej dla świń, natomiast średnia wartość aktywności enzymów wątrobowych AspAt i ALAt u dzików po transporcie wynosiła odpowiednio 4580,8 i 432 U/l. Zakres uzyskanych wartości dla AspAt po transporcie wynosił od 1225 do 13348 U/l, a dla ALAt od 221 do 1065 U/l. Pozostałe badane parametry nie różniły się od siebie i nie odbiegały od normy. Z otrzymanych danych wynika: 1) dla zwierząt nieudomowionych największym czynnikiem stresowym jest transport, a nie procedura odłowów czy stosowanie środków farmakologicznych oraz 2) dla uzyskania wiarygodnych wyników biochemicznych krwi wskazany jest przynajmniej 48-godzinny odpoczynek po transporcie.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Becerril-Herrera M., Alonso-Spilsbury M., Ortega M.E., Guerrero-Legarreta I., Ramírez-Necochea R., Roldan-Santiago P., Pérez-Sato M., Soní-Guillermo E., Mota-Rojas D., 2010. Changes in blood constituents of swine transported for 8 or 16 h to an Abattoir. *Meat Sci.*, 86, 945–948.
- [2] Mota-Rojas D., Becerril-Herrera M., Roldan-Santiago P., Alonso-Spilsbury M., Flores-Peinado S., Ramírez-Necochea R., Ramírez-Telles J.A., Mora-Medina P., Pérez M., Molina E., Soní E., Trujillo-Ortega M.E., 2012. Effects of long distance transportation and CO2 stunning on critical blood values in pigs. *Meat Sci.*, 90, 893–898.



## MIKROFLORA ŻWACZY JELENI Z SIEDLISK BOROWYCH W OKRESIE JESIENNYM

## RUMEN MICROFLORA OF DEER WITH CONIFEROUS HABITAT IN THE AUTUMN

Aneta Nowakiewicz<sup>1</sup>, Przemysław Zięba<sup>2</sup>, Sebastian Gnat<sup>1</sup>, Roman Dziedzic<sup>3</sup>, Sławomir Beeger<sup>3</sup>,  
Barbara Majer-Dziedzic<sup>1</sup>, Grażyna Ziólkowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin,  
e-mail: anowakiewicz@gmail.com

<sup>2</sup>Zakład Higieny Weterynaryjnej w Lublinie, ul. Słowicza 2, 20-336 Lublin

<sup>3</sup>Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Zakład Ekologii i Hodowli Zwierząt Łownych, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

Przeżuwacze stanowią grupę zwierząt charakteryzujących się specyficznym sposobem przetwarzania i przyswajania pokarmu. Badania są prowadzone na terenie Pomorza, na terenach łowieckich Ośrodków Hodowlanych nadleśnictwa Warcino i Trzebielino. Pod względem zasobności i jakości pokarmu tereny te szacuje się jako średnie i słabe. Zagęszczenia jeleni są stosunkowo wysokie (około 50 osobników na 1000 ha) i dlatego istnieje presja zwierząt na szatę roślinną. W związku z tym pojawia się konieczność dokarmiania zwierząt zbilansowaną mieszanką paszową, przygotowywaną we własnym zakresie.

**Cel badań:** Określenie wpływu pobieranej przez zwierzęta karmy na skład jakościowy i ilościowy mikroflory żwacza. I etap badań objął ocenę parametrów mikrobioty w grupie zwierząt bazujących na pokarmie naturalnym (roślinność drzewiasta i zielna), tzw. grupę kontrolną, a II etap obejmie zwierzęta dokarmiane mieszanką paszową.

**Materiał i metody:** Materiał do badania stanowiła treść przedżołądka (żwacz), pobierana pośmiertnie od badanych zwierząt – jeleni (*Cervus elaphus*) (odstrzał prowadzono zgodnie z rocznym łowieckim planem hodowlanym) z uwzględnieniem: pory roku, grup wiekowych i płci. Treść żwacza odsączano, odrzucając fazę stałą. Do dalszych badań wykorzystywano fazę płynną. Procedurę ograniczono do badań bezpośrednich, obejmujących oznaczenie całkowitej liczby bakterii, drożdży i pierwotniaków. Płyn żwaczowy rozcieńczano 1:100, liczbę pierwotniaków określano w komorze Fuchs-Rosentala, barwiąc błękitem trypanu (0,2%), natomiast liczbę drożdży w komorze Burkera – materiału nie barwiono. Liczbę, kształt i barwliwość (Gram-dodatnie/Gram-ujemne) bakterii oceniano w barwionych preparatach mikroskopowych w identycznym rozcieńczeniu (bakterie liczono w trzech powtórzeniach, w każdym po 20 pól widzenia)

**Wyniki i omówienie:** Ogółem w I etapie przebadano 120 próbek: powyżej roku: byki (młode, średnie i stare) 60, łanie 45, cielęta 15 (5–7 mies.). Badania wykazały znacznie niższą liczbę drobnoustrojów żwaczowych u cieląt w porównaniu z osobnikami dorosłymi: liczba drożdży wynosiła  $5,1 \times 10^8$  komórek/ml, liczba pierwotniaków kształtowała się następująco: 250–860 tys./ml (średnio 437 tys./ml), przy czym przeciętny odsetek pierwotniaków małych wynosił 5%, natomiast pozostałą część stanowiły pierwotniaki duże i średnie. Całkowita liczba bakterii wynosiła średnio  $7,4 \times 10^{11}$ /ml, przy czym większość stanowiły bakterie Gram-dodatnie –  $4,9 \times 10^{11}$ /ml, w tym  $3,9 \times 10^{11}$ /ml były to formy ziarniakowate, a  $1 \times 10^{11}$ /ml formy cylindryczne. Liczba bakterii Gram-ujemnych wynosiła  $9,9 \times 10^{11}$ /ml, w tym jedynie  $1,2 \times 10^{11}$ /ml stanowiły formy cylindryczne, a pozostałą liczbę ( $8,7 \times 10^{11}$ /ml) stanowiły bakterie kształtu ziarniaków. Relatywnie wyższą liczbę drobnoustrojów prezentowały próbki pochodzące od zwierząt dorosłych. Nie zaobserwowano natomiast różnic pomiędzy łaniami i bykami. Całkowita liczba bakterii wynosiła średnio  $9,7 \times 10^{11}$ /ml, przy czym również w tym przypadku większość stanowiły bakterie Gram-dodatnie –  $6,0 \times 10^{11}$ /ml, w tym  $3,8 \times 10^{11}$ /ml były to formy ziarniakowate, a  $2,2 \times 10^{11}$ /ml formy cylindryczne. Ze względu na konieczność synchronizacji pobierania próbek od zwierząt, z łowieckim planem hodowlanym, II część badań, dotycząca grupy zwierząt dokarmianych mieszanką paszową zostanie przeprowadzona w późniejszym okresie.



## INWAZJE PASOŻYTNICZE EGZOTYCZNYCH JASZCZUREK W ŚWIETLE BADAŃ KOPROSKOPOWYCH

### PARASITES INFECTIONS IN EXOTIC LIZARDS IN COPROSCOPICAL EXAMINATION

Jarosław Pacon<sup>1</sup>, Ewelina Stanicka<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Zakład Parazytologii,  
ul. Norwida 31, 50-75 Wrocław, e-mail: jaroslaw.pacon@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Studentka V roku, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej

**Wstęp:** Hodowla egzotycznych jaszczurek w domu stanowi alternatywę dla ludzi chcących mieć w domu zwierzę, ale niedysponujących dużą ilością wolnego czasu. Przy dobrze zaplanowanym terrarium codzienna obsługa domowego gada może ograniczać się do kilkunastu minut. Kupując, wybieramy osobniki klinicznie zdrowe, jednak nie dysponujemy wynikami badań koproscopowych.

**Materiał i metody:** Materiał stanowił kał egzotycznych jaszczurek pozyskany ze sklepów i ogrodów zoologicznych. Badania wykonywano metodą flotacji wg Fülleborna z nasyconym roztworem NaCl, metodą Fecalyzer oraz metodą sedymentacji w celu wykrycia jaj przywr. W przypadku suchego kału próbkę najpierw moczo ok. 3 godzin w płynie fizjologicznym, następnie przeprowadzano badanie. Wyniki badania oznaczano przy powiększeniu 100x wg następującego klucza: <10 jaj w polu widzenia (+), 10–30 jaj w polu widzenia (++) , 30–50 jaj w polu widzenia (+++) , >50 jaj w polu widzenia – niepoliczalne (++++).

**Wyniki:** Badania wykazały, że większość jaszczurek zarówno w sklepach zoologicznych, jak i z ogrodu zoologicznego było zarażonych pasożytami jelitowymi. Najczęściej notowano owsiki z rodziny *Oxyuridae* – 52,6%, następnie kokcydia – 13% i *Ancylostomatidae* – 7,9%. W pojedynczych przypadkach zanotowano *Capillaria* sp., *Strongyloididae* i jaja przywr. U 42 % jaszczurek nie wykazano inwazji pasożytów jelitowych.

Dokładne wyniki zostaną przedstawione w formie plakatu.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Klingenberg J.R., Understanding Reptile Parasites. The Herpetocultural Library, Advanced Vivarium Systems Irvine California.
- [2] Frye F.L., 1991. Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry. Krieger Publishing Company Florida.

**ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ SZCZEPÓW *E. COLI* IZOLOWANYCH OD KRÓLIKÓW****ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *E. COLI* STRAINS ISOLATED FROM RABBITS****Tomasz Piasecki<sup>1</sup>, Robert Kupczyński<sup>2</sup>, Michał Bednarski<sup>1</sup>**

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii z Klinika Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

<sup>2</sup>Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Katedra Higieny Środowiska Dobrostanu Zwierząt, ul. Chelmońskiego 38c, 51-630 Wrocław

Biegunki i upadki wywołane przez enteropatogenne szczepy *E. coli* (EPEC) są główną przyczyną strat ekonomicznych w produkcji brojlerów króliczych. Upadki wywołane przez te szczepy wahają się w granicach 25–40%. W chwili obecnej główny nacisk kładziony jest na leczenie przypadków chorobowych przy wykorzystaniu antybiotyków. Takie działanie niesie za sobą jednak wiele negatywnych konsekwencji. Biorąc pod uwagę specyfikę funkcjonowania przewodu pokarmowego królików, stosowana antybiotykoterapia przynosi bardzo zróżnicowane efekty, w niektórych przypadkach pojawia się wręcz pogorszenie stanu klinicznego i wzrost upadków. Jednocześnie takie działanie przyczynia się do powstawania i selekcji szczepów bakterii opornych na antybiotyki. Ważnym zagadnieniem, które od kilku lat znajduje się w centrum światowej uwagi, jest również możliwość przeniesienia oporności ze szczepów chorobotwórczych dla zwierząt do patogenów ludzkich [1].

**Cel pracy:** Określenie oporności szczepów *E. coli* izolowanych od królików, u których występowała uporczywa biegunka, prowadząc do wysokiej liczby upadków.

**Materiał i metody:** Łącznie przebadano 56 szczepów *E. coli*, które zostały wyizolowane od królików w wieku 40–60 dni z objawami silnej biegunki. Zwierzęta pochodziły z 6 ferm króliczych brojlerów, w których obsada matek wynosiła od 600 do 1000 sztuk. Wrażliwość wyizolowanych drobnoustrojów na chemioterapeutyki określano metodą dyfuzyjno-krążkową na podłożu Müller-Hintona II zgodnie z wytycznymi NCCL.

**Wyniki i omówienie:** Przeprowadzone badania wykazały silną oporność wyizolowanych szczepów *E. coli* na antybiotyki betalaktamowe (penicylina, amoksycylina), sulfonamidy, tetracyklinę, doksycyklinę oraz streptomycynę. Natomiast w przypadku gentamycyny, florfenikolu, cefaleksyny i cefuroksimu szczepy były w pełni wrażliwe. Należy zaznaczyć, że badania wykazały wzrost oporności na enrofloksacynę aż 57,7% szczepów było średnio wrażliwa, a 7% wykazywało całkowitą oporność. Wynik ten jest o tyle istotny, że chemioterapeutyk ten znajduje powszechne zastosowanie w terapii biegunek królików na tle *E. coli*.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Trevejo R. T., Barr M. C., Robinson R. A., 2005. Important emerging bacterial zoonotic infections affecting the immunocompromised Vet. Res.: 36, 493–506.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki, Nr grantu: N N311 548040.



## INNOWACYJNE METODY W WALCE Z AGRESJĄ U SŁONI (*LOXODONTA AFRICANA*, *LOXODONTA CYLOTICA*, *ELEPHANTUS MAXIMUS*)

## INNOVATIVE METHODS TO STOP AGRESSION IN ELEPHANTS (*LOXODONTA AFRICANA*, *LOXODONTA CYLOTICA*, *ELEPHANTUS MAXIMUS*)

Paulina Plewako, Jan Siemionek

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, paulinaplewako@gmail.com

U słoni stwierdza się czasami agresywne zachowanie. Znane są trzy główne powody ich agresywnego zachowania. Pierwszym z nich jest głód.

Drugą najczęstszą przyczyną agresji u słoni jest strach. W celu jego eliminacji zaleca się prowadzenie treningów medycznych zwierząt.

Trzecią przyczyną agresji u słoni jest podwyższony poziomu hormonów płciowych i okres wzrostu pobudzenia seksualnego. U samic przebiega on raczej spokojnie, a obsługa słonic nie stwarza żadnych problemów. Zupełnie inaczej problem wygląda u samców. W fazie „musth” byki słoni nie są w stanie się kontrolować, nie reagują na komendy trenerów i są silnie pobudzone. Powszechnie zaleca się, by takie samce były odłączane na okres treningu i dodatkowo zabezpieczane poprzez spętanie kończyn łańcuchami. Nowoczesne metody badań wykazały, że nie jest to dzisiaj konieczne. Badania prowadzone m.in. w Uniwersytecie w Pretorii, w RPA wykazały, że podawanie samcom słoni GnRH lub jego analogów może wpływać w znacznym stopniu na redukcję agresywnego zachowania.

**Celem badań:** Ocena przydatności analogów GnRH do obniżenia agresji u słoni.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 6 samcach słonia afrykańskiego pochodzących z Republiki Południowej Afryki oraz Zimbabwe. Słonie były w różnym wieku i u każdego z nich już odnotowano zachowania agresywne, a nawet incydenty śmiertelne z udziałem ludzi lub innych słoni. Słoniom został podany analog gonadoliberyny, w którym L-glicynę w pozycji szóstej zastąpiono D-lizyną, co umożliwiło koniugację z albuminą zgodnie z metodyką Turkstri i wsp. [1]. Samcom podawano 3 ml dawkę preparatu 3-krotnie w odstępach 3–7-tygodniowych. Iniekcja była wykonana domięśniowo w mięśnie zadu, w jedno miejsce. Następnie w określonych jednostkach czasowych pobierano krew od słoni. Do celów badawczych pobierano również próbki kału w celu określenia amplitudy obecności poziomu metabolitów androgenów (FAM, FCM) w odchodach. W czasie badania były przeprowadzane obserwacje behawioralne przez niezależnych ekspertów.

**Wyniki i omówienie:** U wszystkich badanych słoni, którym podano analog GnRH w znaczący sposób nastąpiło obniżenie agresji, nie powodując zaburzeń jakościowych i ilościowych w produkcji plemników.

Badany preparat z powodu ograniczeń nie jest nadal poddawany badaniom. Do chwili obecnej nie stwierdzono również żadnych skutków ubocznych u badanych słoni. Wskazane są dalsze badania nad przydatnością analogów GnRH w ich stosowaniu u słoni. Istnieje jednak ryzyko, iż w wyniku długotrwałego podawania GnRH u samców słoni może wystąpić bezpłodność.

### Piśmiennictwo:

- [1] Turkstra J.A., Colenbrander B., Palme R; Human A.M., 2010. Vaccination against GnRH may suppress aggressive behaviour and musth in African elephant (*Loxodonta africana*) bulls – a pilot study, J. S. Afr. Vet. Assoc. Pretoria., 81, 1.





## KOKCYDIA (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) WYSTĘPUJĄCE U ŻUBRÓW (*BISON BONASUS* L.)

## COCCIDIA (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) OF THE EUROPEAN BISON (*BISON BONASUS* L.)

**Maria Anna Pyziel, Aleksander Wiaczesław Demiaszkiewicz**

Polska Akademia Nauk, Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego, ul. Twarda 51/55, 00-818 Warszawa,  
e-mail: apyziel@gmail.com

Kokcydia z rodzaju *Eimeria* są pasożytami kręgowców i bezkręgowców, szeroko rozpowszechnionymi zarówno wśród zwierząt domowych, jak i dzikich. Przy czym u tych ostatnich ciągle pozostają mało poznana grupa pasożytów, w odróżnieniu od kokcydiów zwierząt hodowlanych, u których inwazje tych pierwotniaków często powodują duże straty ekonomiczne, na skutek upadków młodych zwierząt, gorszego wykorzystania paszy i niskich przyrostów masy ciała.

**Cel badań:** Ustalenie składu gatunkowego kokcydiów z rodzaju *Eimeria* występujących u żubrów (*Bison bonasus* L., 1758) oraz określenie wartości OPG i ekstensywności zarażenia kokcydiami wspomnianych żywicieli.

**Materiał i metody:** W latach 2008–2011 zbadano łącznie 424 próby kału żubrów, w tym 359 prób pochodziło od żubrów wolno żyjących na terenie Puszczy Białowieskiej, Puszczy Boreckiej i Puszczy Knyszyńskiej, a 65 od żubrów z hodowli rezerwatowych w Białowieży, Gołuchowie, Niepołomicach, Kiermusach, Pszczyńcu, Smardzewicach i Wolińskim PN. Próby zostały zbadane metodą ilościową McMastera. Próby dodatkowo zawieszano w 2,5% roztworze  $K_2Cr_2O_7$  i poddawano procesowi sporulacji w temperaturze 23°C. Pomiarów i fotografii badanych struktur wykonywano przy 1000 x powiększeniu obrazu (mikroskop OLYMPUS BX50 i program komputerowy Cell<sup>P</sup>).

**Wyniki i omówienie:** W próbach kału żubrów stwierdzono obecność oocyst 11. gatunków kokcydiów bydłych (*Eimeria alabamensis*, *E. auburnensis*, *E. bovis*, *E. brasiliensis*, *E. bukidnonensis*, *E. canadensis*, *E. cylindrica*, *E. ellipsoidalis*, *E. pellita*, *E. subspherica*, *E. zuernii*). Ekstensywność zarażenia wyniosła 33,5%, przy wartości OPG od 50 do 6550. Najpowszechniej występowały oocysty gatunku *E. bovis* (29,7%), najrzadziej stwierdzano obecność oocyst *E. brasiliensis* (0,5%). Jest to pierwsza rejestracja u żubra gatunków: *E. alabamensis*, *E. auburnensis*, *E. brasiliensis*, *E. cylindrica*, *E. pellita*, *E. subspherica*.



## SYTUACJA EPIZOOTYCZNA WŚCIEKLIZNY ZWIERZĄT WOLNO ŻYJĄCYCH W WOJ. WARMIŃSKO-MAZURSKIM W 10 LAT PO WPROWADZENIU SZCZEPIEŃ DOUSTNYCH

### EPIZOOTIC SITUATION OF RABIES IN WILD ANIMALS IN WARMINSKO-MAZURSKIE VOIVODESHIP AFTER 10 YEARS AFTER INTRODUCTION OF ORAL VACCINATIONS

Jan Siemionek, Magdalena Wawro, Wojciech Szweda

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: jan.siemionek@uwm.edu.pl

Wścieklizna, pomimo wdrożenia różnych programów zwalczania, stanowi nadal główny problem epizootiologiczny i epidemiologiczny w wielu regionach świata. Rezerwuarem wirusa wścieklizny są psy, koty lub zwierzęta wolno żyjące, w zależności od uwarunkowań kontynentalnych. W 2000 r. w woj. warmińsko-mazurskim zmarła na wściekliznę kobieta pokąsana w opuszkę palca przez własnego kota. W tym okresie sytuacja epizootyczna wścieklizny była bardzo niekorzystna. W 2000 r. woj. warmińsko-mazurskim odnotowano aż 446 przypadków wścieklizny (45% u lisów) wśród 2211 przypadków w całym kraju.

**Cel pracy:** Ocena sytuacji epizootycznej wścieklizny zwierząt wolno żyjących na terenie woj. warmińsko-mazurskiego w 10 lat po wprowadzeniu immunizacji doustnej.

**Materiał i metody:** Analizę sytuacji epizootycznej wścieklizny przeprowadzono na podstawie wyników badań zwierząt w latach 2001–2011 prowadzonych przez WIW w Olsztynie, biuletynu o stanie chorób zakaźnych zwierząt GIW, biuletynu internetowego WHO Rabies Bulletin Europe oraz badań własnych [1].

**Wyniki i omówienie:** Pierwsze szczepienia doustne zwierząt wolno żyjących przeciw wściekliznie na terenie województwa przeprowadzono w 2000 r. w powiatach elbląskim i braniewskim, w gminach Kisielice i Susz powiatu iławskiego oraz w gminie Orneta. Cały teren województwa objęto szczepieniami od 1.05.2001 r. Szczepionkę Fuchsoral prod. Biowet Puławy wykładano z samolotów w liczbie 35 – 40 dawek na km<sup>2</sup>, 2 razy w roku wiosną i jesienią. W 2001 r. stwierdzono w województwie 387 przypadków wścieklizny zwierząt. W 2005 r. odnotowano spadek zachorowań do 78 przypadków przy 138 w kraju. Po 5 latach szczepień doustnych (2006 r.) sytuacja epizootyczna wścieklizny uległa znacznej poprawie i liczba przypadków w województwie zmniejszyła się do 31, przy 82 przypadkach w Polsce. Stwierdzono 10 przypadków wścieklizny u lisów (32,3%), 13 u jenotów (42,2%), 1 u kuny (3,2%), 2 u bydła (6,5%), 4 u kotów (12,9%) i 1 u psa (3,2%). W kolejnym roku (2007) odnotowano prawie dwukrotne zmniejszenie się liczby przypadków do 18, przy 48 w kraju. W latach 2008–2010 stwierdzano w województwie odpowiednio 4, 0 i 1 przypadek wścieklizny, przy 151 w 2010 r. w kraju. W 2011 r. nastąpił nieznaczny wzrost zachorowań zwierząt na wściekliznę w województwie do 8 przypadków, w tym 4 u lisów (50%), 1 u jenota (12,5%), 2 u nietoperzy (25%), 1 u bydła (12,5%). W całym kraju odnotowano wówczas 157 przypadków. Analizując sytuację epizootyczną w woj. warmińsko-mazurskim wykazano znaczący spadek przypadków wścieklizny po 4, 5 latach szczepień doustnych. Po 7 latach liczba przypadków wścieklizny zmalała do kilku rocznie. Sytuacja epizootyczna wścieklizny zwierząt wolno żyjących w woj. warmińsko-mazurskim po 10 latach szczepień doustnych jest dobra. Niepokojące jest stwierdzenie wścieklizny u 3 nietoperzy w latach 2010 i 2011 oraz niekorzystna sytuacja epizootyczna wścieklizny zwierząt w kraju w ostatnich 2 latach, dlatego wprowadzono stosowne korekty w programie zwalczania.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Siemionek J., Szweda W., Radkowski M., 2007. Sytuacja epizootyczna wścieklizny w województwie warmińsko-mazurskim w czasie immunizacji doustnej zwierząt wolno żyjących w latach 2001–2005, Med. Wet., 63, 700–702.
- [2] [www.who-rabies-bulletin.org](http://www.who-rabies-bulletin.org)



## ZMIANY NEUROLOGICZNE W OŚRODKOWYM UKŁADZIE NERWOWYM (OUE) STARYCH NIEDŹWIEDZI

### THE NEUROPATHOLOGICAL CHANGES IN SNS OF OLD BEARS

Zenon Sołtysiak<sup>1</sup>, Magdalena Wereszczyńska<sup>1</sup>, Michał Bednarski<sup>2</sup>, Robert Maślak<sup>3</sup>,  
Tomasz Piasecki<sup>2</sup>, Agnieszka Sergiel<sup>3</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów; Zakład Parazytologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław,

e-mail: zenon.soltysiak@up.wroc.pl, <sup>2</sup>Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-559 Wrocław

<sup>3</sup>Uniwersytet Wrocławski, Wydział nauk Biologicznych, Katedra Biologii Ewolucyjnej i Ekologii, ul. H. Sienkiewicza 21, 50-335 Wrocław

**Wstęp:** Morfologicznymi wykładnikami procesu starzenia się ośrodkowego układu nerwowego (OUN) u zwierząt są: zanik mózgu, włóknienie oraz bezkomórkowy depozyt kolagenowy ulegający hialinizacji w oponie miękkiej i w rusztowaniu spłotu naczyńiówkowego. Dodatkowo obserwuje się obecność płytek metaplazji kostnej w oponie twardej rdzenia, mineralizację ścian naczyń krwionośnych w obszarze jąder podstawy, torbce wewnętrznej i w obszarze mózdzkowym rdzenia przedłużonego.

**Cel pracy:** Przedstawienie zmian histopatologicznych w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) trzech starych niedźwiedzi: dwóch brunatnych i jednego himalajskiego. Badane zwierzęta były w wieku 29–33 lat.

**Materiał i metody:** Do badań histopatologicznych pobrano wycinki mózgowia niedźwiedzi. Wycinki utrwalono w 8% formalinie. Preparaty histopatologiczne były barwione hematoksyliną i eozyną (H-E), met. immunohistochemiczną z mab. 4G8 i mab. Tau-1.

**Wyniki i omówienie:** Badanie makroskopowe mózgowi niedźwiedzi wykazało rozlany zanik polegający na zwężeniu, pomarszczeniu i budowie kanciastej zakrętów mózgu, oraz poszerzeniu i pogłębieniu bruzd. Sieć naczyńiowa spłotu podpajęczynówkowego i naczyńiówkowego komór bocznych była uboga, a światło komór w różnym stopniu poszerzone.

Utrata neuronów u badanych niedźwiedzi obejmowała obszar kory nowej, a szczególnie płata skroniowego, róg Ammona, korę śródwęchową, komórki Purkiniego i warstwę ziarnistą mózdzku, jądro podstawne Meynerta, miejsce sinawe i pień mózgu. W neuronach kory nowej, jąder podkorowych, jąder podstawy mózdzku, w obrębie komórek Purkiniego, w neuronach ruchowych rdzenia przedłużonego gromadził się „pigment starczy” – lipofuscyna. U trzech niedźwiedzi wykazano amyloidozę- $\beta$  w korze czołowej, skroniowej, potylicznej oraz jądrach podkorowych z dominującymi płytkami dyfuzyjnymi i kongofilną amyloidowi, angiopatię (KAA) w ścianach naczyń. W barwieniu mab. Tau-1 stwierdzono obecność w neurocytach rogu Ammona zmian neurofibrylarnych (ZNW) oraz w płatach skroniowych kory mózgu płytek tau-1 pozytywnych.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Brain A. Summers J., Cummings F., Lahunta A., 1995. Veterinary Neuropathology, Mosby-Year Book, Inc.
- [2] Sołtysiak Z., 2000. Badania porównawcze nad amyloidozą- i zwyrodnieniem neurowłókienkowym (ZNW) w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) różnych gatunków starych zwierząt i ludzi z chorobą Alzheimera. Wrocław, Zeszyty Naukowe AR, 372, 1–149.
- [3] Sołtysiak Z., Wrzosek M., Nowak M., Gajda M., Kajdasz S., 2005. Monkey brain as a model for Alzheimer's pathology. Med. Wet. vol., 61 (7), 721–840, 756–760.
- [4] Węgiel J., Wiśniewski H.M., Dziewiątkowski J., Tarnawski M., Dziewiątkowska A., Sołtysiak Z., Kim K.S., 1995. Fibrillar and non-fibrillar amyloid in the brain of aged dogs, [in:] Iqbal K., Mortimer J.A., Winblad B., Wiśniewski H.M., Research advance in Alzheimer's disease and related disorders 1995, John Wiley & Sons.Ltd., 703–708.



## WHO KILLED THE PREGNANT FALLOW DEERS FEMALE (*DAMA DAMA*)?

### KTO ZABIŁ CIĘŻARNE SAMICE DANIELI (*DAMA DAMA*)?

Zenon Soltysiak<sup>1</sup>, Józef Nicpoń<sup>1</sup>, Elżbieta Kowalczyk<sup>2</sup>, Arleta Lebioda<sup>2</sup>, Tadeusz Dobosz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Diseases with Clinic of Horses, Dogs and Cats Diseases, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: zenon.soltysiak@up.wroc.pl

<sup>2</sup>Wrocław Medical University, Department of Forensic Medicine, Molecular Techniques Unit, M. Curie-Skłodowskiej 52, 50-369 Wrocław.

**Introductions:** The dog, property of the defendant, broke into the holding, property of the plaintiff destroying the fence and biting to death two pregnant fallow deers.

**Materials and Methods:** The owner of killed deers has collected the hair found within tunnel under the fence and sent it for morphological study in Department of Pathology. Hair sample was collected to after by a veterinarian from the defendant's dog, Alaskan malamute breed, 6–7 years old. The morphological and histological study and comparative analysis of these hairs was with roots from tunnel (12 pieces) and from suspected dog Alaskan malamute breed, 6–7 years old, Max (72 pieces) performed. The hair from tunnel and from suspected dog Alaskan malamute breed, were tested by PCR technique in the Department of Forensic Medicine, Institute of Molecular Techniques, 50-369 Wrocław, Curie-Skłodowskiej 52 st. DNA from hair was isolated with phenol-chloroform method and concentration was measured using Qubit™ fluorometer (Invitrogen). Mixed 7 Plex Kit Canine II Version 1 (Applied Biosystems) was used to amplify dogs specific STR markers. Products of PCR were separated and detected on ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer using GeneMapper ID version 3.2.1. software.

**Result and Discussion:** Morphological studies of material evidence (the tunnel area) in the form of animal hair in the number 12, shown that 10 belongs to dog, one is a human hair. In the macroscopic evaluation, hair (10 pieces) had white wavy corpuscles, are arcuately curved with black ends. Three incomplete hair were white. In the microscopic examination, the medullar layer had a black pigment-filled rectangular and square-root cells, which indicates that they originate from the hair of the dog. One hair with root was thick, rigid and brittle in the tensile test. The microscopic structure was composed with thick interior walls, proved to be a fallow deer's hair. The hair of suspected Alaskan malamute dog delivered dog's hair in the number of 72

pieces proved to be characteristic. Hair are arcuately curved, with wavy part in the middle of hair shaft. Macroscopically, going from roots, hair is bright, then is becoming more dark, in the middle of the hair shaft is bright, and the top is dark again. Microscopically, dark parts of hair contain rectangular cells filled tightly with black pigment, and bright parts of hair contain small amount of pigment in the medullar part of hair. Concentrations of DNA obtained for the evidence and suspect's hair were 0,8 and 0,18ng/μl respectively. Results of STR analysis present Table 1.

The comparative analysis of the hair from tunnel and the hair of suspected Alaskan malamute dog, Max

Table 1. Results of STR typing

STR marker	Hair evidence	Hair of the suspect
PEZ 21 (FAM)	96	96
PEZ 13 (FAM)	172, 219	172, 219
PEZ 11 (JOE)	136	136
PEZ 15 (JOE)	207, 211	207, 211
PEZ 16 (JOE)	292, 299	292, 299
PEZ 17 (NED)	201, 209	201, 209
PEZ 10 (NED)	263, 311	263, 311

6-7 years old showed a high morphological and histological similarity. The molecular analysis performed on the genetic material of hair roots from tunnel and hair roots from suspected Alaskan malamute dog, showed a fully match. The comparative analysis of the hair and molecular analysis result to recognize that defendant's dog killed two fallow deers.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Barbara P., Wheeler L. Wilson J., 2008. Practical Forensic Microscopy A laboratory Manual, Wiley Blackwell.
- [2] Cheville N.F., 2006. Introduction to Veterinary Pathology, third edition, Blackwell Publishing.
- [3] DiMaio V.J., DiMaio D., 2001. Forensic Pathology, second edition, CRC Press.



## ZESPÓŁ HORNERA U SZCZURA – OPIS PRZYPADKU

## HORNER'S SYNDROME IN THE RAT – CASE REPORT

Magdalena Szweda<sup>1</sup>, Izabella Babińska<sup>1</sup>, Józef Szarek<sup>1</sup>, Anna Kołodziejaska<sup>2</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Patofizjologii, Weterynarii Sądowej i Administracji, <sup>2</sup>Katedra Diagnostyki Klinicznej, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: magda\_szweda@o2.pl

Szczury coraz częściej są pacjentami w zakładach leczenia zwierząt. Wymagają one szczególnie wnikliwych badań celem postawienia diagnozy, zwłaszcza w przypadku pojawienia się objawów neurologicznych.

**Opis przypadku:** Do gabinetu weterynaryjnego trafił szczur hodowlany, husky, w wieku 18 miesięcy, samiec, o masie ciała 200 g. Właściciele w końcowym stadium choroby zaobserwowali u szczura jadło- i wodowstręt oraz zwiększoną agresję. Podczas badania klinicznego stwierdzono silne odwodnienie, znaczny spadek masy ciała i temperaturę wewnętrzną ciała – 35,2°C. Obrys brzucha był powiększony, a w badaniu palpacyjnym stwierdzono bolesność. Przeprowadzając badanie okulistyczne, zaobserwowano opadanie powieki, zapadnięcie oka i wypadnięcie trzeciej powieki oka lewego. Głowa była przechylona po stronie zmienionego oka. Sugerując się objawami, przeprowadzono badanie otoskopowe. W przewodzie słuchowym zewnętrznym nie zaobserwowano żadnych zmian, natomiast błona bębenkowa była matowa, żółta i miejscami przekrwiona. Podczas omacywania okolicy puszkii bębenkowej występowała znaczna bolesność.

**Postępowanie:** Wykonano zdjęcia rentgenowskie, aby określić miejsce infekcji. Przed wykonaniem badania pacjenta ustabilizowano. Założono kateter dożylny do żyły bocznej ogona i powoli podawano 5% glukozę 4 ml (Glukoza 5% 250 ml, Braun). Podano także dożylnie deksametazon 0,2 ml (Dexaven 4 mg/ml, Jelfa). Zwierzę umieszczono w namiocie tlenowym na podgrzewanej do 37°C macie. Jednak, prawdopodobnie pod wpływem stresu związanego z manipulacjami lekarskimi i znacznego zaawansowania choroby, u gryzonia po 20 min ustał oddech, a krótko po nim także praca serca. Mimo przeprowadzonej reanimacji i podaniu dożylnie adrenaliny 0,2 ml (Adrenalina 0,1%, Polfa Warszawa) zwierzęcia nie udało się uratować.

**Sekcja:** Przeprowadzając autopsję głowy, potwierdziło się przypuszczenie zapalenia ucha środkowego. Prawdopodobnie zakażenie rozprzestrzeniło się drogą wstępującą z gardła poprzez trąbkę słuchową. W tym miejscu powstał ropień, zamykający częściowo światło krtani i całkowicie światło przelyku, kontaktujący się z puszką bębenkową. To tłumaczy agresję zwierzęcia podczas przymusowego karmienia, a także niemożność przyjmowania pokarmu i wody. Nie zaobserwowano u gryzonia trudności w oddychaniu, ponieważ ropień nie zamknął całkowicie światła krtani. Po nacięciu torebki ropnia stwierdzono obecność serowatych mas ropnych, następnie pobrano jałową wymazówką materiał zapalny i oddano do laboratorium mikrobiologicznego. Po otwarciu puszkii bębenkowej stwierdzono, że całą przestrzeń wypełniają żółte, gęste masy ropne. Przeprowadzone badanie bakteriologiczne ujawniło obecność *Pasteurella pneumotropica*. Z antybiogramu wynikało, że patogen jest wrażliwy na enrofloksacynę.

**Omówienie:** Zespół Hornera jest wynikiem uszkodzenia części współczulnej układu nerwowego, charakteryzuje się objawami jednostronnego zwężenia źrenicy oka, opadnięcia powieki i wypadania powieki trzeciej. Obserwuje się także lekkie zapadnięcie gałki ocznej, co dodatkowo zwęża szparę powiekową. Bezpośrednia reakcja źrenicy na światło jest często zniesiona. Jako że współczulny komponent unerwienia gałki ocznej przebiega przez puszkę bębenkową, nierzadko dochodzi do włączenia go w proces chorobowy, dlatego częstym u szczurów przypadkom zapalenia ucha środkowego towarzyszy rozwój zespołu Hornera. Rokowanie w przypadku zapalenia ucha środkowego i wewnętrznego jest ostrożne.

**Piśmiennictwo:**

- [1] Boydell P., 1995. Horner's syndrome following cervical spinal surgery in the dog. J. Small Anim. Pract., 36 (11), 510–512.
- [2] Everitt J.I., Mc Laughlin S.A., Helper L.C., 1988. Diagnostic exercise: Eye lesions in the rat. Lab. Anim. Sci., 37: 203–204.





## PROBLEMY ZDROWOTNE GŁUSZCÓW (*TETRAO UROGALUS*) INTRODUKOWANYCH W BORACH DOLNOŚLĄSKICH – PRZYPADKI KAZUISTYCZNE

### DISEASES OF CAPERCAILLIE *TETRAO UROGALUS* REINTRODUCED IN BORY DOLNOŚLĄSKIE FOREST – CASUISTIC CASES

Piotr Szymański<sup>1</sup>, Jarosław Pacoń<sup>2</sup>, Marek Houszka<sup>3</sup>, Jarosław Król<sup>3</sup>, Józef Nicpoń<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ośrodek Leczenia i Rehabilitacji Dzikich Zwierząt

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu/Fundacja na Rzecz Ochrony Dzikich Zwierząt ZYS Wrocław,

<sup>2</sup>Zakład Parazytologii UP we Wrocławiu, <sup>3</sup>Pracownia Ekologii i Chorób Zwierząt Łownych,

<sup>4</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów UP we Wrocławiu

Głuszcę od 1995 r. objęty jest na terenie Polski ochroną gatunkową i strefową. W związku z systematycznie zmniejszającą się liczebnością tego kuraka oraz zmniejszającą się różnorodnością genetyczną rozpoczęto restytucję tego gatunku na terenach Borów Dolnośląskich, a wprowadzone do środowiska młode ptaki poddane są ciągłemu monitoringowi.

**Materiał:** Materiał stanowiły dwa głuszcze pochodzące z Borów Dolnośląskich.

**Opis przypadków:** Przypadek 1. Kogut w wieku 2 lata reintrodukowany w Borach Dolnośląskich i żyjący w naturze od września 2011 r. Został dostarczony do Ośrodka Leczenia i Rehabilitacji Dzikich Zwierząt UP z objawami knemidokptozy. Skóra palców i skoków była zgrubiała, pokryta szarymi nalotami. Zmiany te powodowały niechęć do chodzenia, kulawizny i zaleganie. Podobne zmiany stwierdzono także na skórze okolicy żuchwy. Długotrwałe zaleganie doprowadziło do odleżyn skóry w okolicy mostka. W momencie badania kogut ten ważył 3800 g, wykazując znaczną niedowagę. Zaleganie spowodowało także zmiany zapalne i martwicze na skórze mostka. W zeszkobinach pobranych z kończyn stwierdzono obecność licznych pasożytów *Cnemidocoptes mutans*. Ze zmian na nogach i z mostka pobrano materiał do badania mikrobiologicznego. W posiewach stwierdzono gronkowce *Staphylococcus aureus* wrażliwe m.in. na enrofloksacynę. W leczeniu zastosowano kąpiele w roztworze szarego mydła z dodatkiem gliceryny oraz smarowanie skóry nóg roztworem Ivomecu jeden raz dziennie, maścią Panolog jeden raz dziennie, (preparat ten zastąpiono po 10 dniach jego stosowania maścią antybiotykową Tribiotic) oraz iniekcjach domięśniowych enrofloksacyny (Baytril 2,5%) w dawce 10 mg / kg mc w 5 dawkach. Poprawa stanu zdrowia nastąpiła po 3 tygodniach leczenia. Kogut przed wypuszczeniem na wolność ważył 5200 g i dostał Ivermektynę spot on w dawce 4,0 mg / kg mc.

Przypadek 2. Kogut w bardzo dobrej kondycji o masie ciała 4800 g, intensywnie tokujący zszedł nagle bez widocznych objawów klinicznych. Dzięki nadajnikowi szybko został odnaleziony i dostarczony do badania. Przeprowadzona sekcja wykazała obecność kremowych guzków wielkości 2–3 mm w mięśniach piersiowych. Podobne guzki wielkości 4–8 mm znajdowały się w otrzewnej oraz w prawym płucu. W jamie miednicowej po prawej stronie znajdowała się torbiel wielkości kurzego jaja uciskająca nerkę. Torbiel ta była wypełniona żółtawymi warstwowo ułożonymi złoгами galaretowatej konsystencji oraz śluzowatym płynem. Z materiału pobranego z guzków i z torbieli wykonano posiew w kierunku mikrobiologicznym i mykologicznym. W pierwszym wykazano bardzo liczne kolonie *E. coli*, a w drugim grzyby *Aspergillus flavus*.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Boch J., Schneidawind H., 1988. Krankheiten des jagdbaren wildes. Hamburg und Berlin.
- [2] Merta D., Kobielski J., Krzywiński A., 2011. Wstępne wyniki restytucji populacji głuszcza *Tetrao urogalus* na Terenie Nadleśnictwa Ruszów. *Studia i Materiały CEPL w Rogowie*. R 13, zeszyt 2, (27).



## BADANIA MOLEKULARNE METODĄ PCR W DIAGNOSTYCE CHOROBY ALEUCKIEJ NOREK W FERMACH W POLSCE

### MOLECULAR DIAGNOSIS USING PCR IN ALEUTIAN MINK DISEASE IN FARMS IN POLAND

**Magdalena Wawro, Jan Siemionek, Anna Szczerba-Turek, Karolina Lipczyńska**

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii, ul. M. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: magdalena.wawro@uwm.edu.pl*

Choroba aleucka norek stanowi istotny problem w fermowej hodowli norek na całym świecie. Najczęściej zakażenie przebiega bezobjawowo bez wyraźnych objawów klinicznych. Po kilku lub kilkunastu miesiącach inkubacji stwierdza się zaburzenia w rozrodzie. Najczęściej u ciężarnych norek następuje resorpcja płodów lub mogą się rodzić słabe, mało żywotne szczenięta, które giną w pierwszych dniach po porodzie. Z powodu braku immunoprofilaktyki swoistej obecnie jedyną metodą stosowaną powszechnie w diagnostyce i zwalczaniu choroby jest test serologiczny CIE umożliwiający diagnozowanie serologicznie dodatnich norek, a następnie ich usuwanie ze stada.

W Polsce dotychczas nie opublikowano badań nad zastosowaniem badań molekularnych metodą PCR w diagnostyce i zwalczaniu choroby aleuckiej norek.

**Cel badań:** Ocena przydatności metody PCR w diagnostyce choroby aleuckiej norek w krajowych fermach norek i charakterystyka molekularna uzyskanych izolatów.

**Materiał i metody:** Materiał do badań molekularnych metodą PCR stanowiły narządy 13 padłych norek (śledziona, wątroba, nerka, płuca norek). Obiektem badań była ferma o złym statusie epizootycznym, charakteryzująca się małą liczbą urodzonych szczeniąt oraz ferma o nieznanym statusie epizootycznym z dobrym wskaźnikiem urodzeń. Izolaty zostały poddane sekwencjonowaniu.

**Wyniki i omówienie:** PCR do wykrycia zakażeń wirusem choroby aleuckiej norek wykonano z zastosowaniem pary specyficznych starterów 5'-CTTGTCACGCTACTAGAATGGT-3' i 5'-AGCTTAAGGT-TAGTTTACATGGTTTACT-3' [1]. Obecność wirusa stwierdzono w narządach 2 norek pochodzących z fermy o złej sytuacji epizootycznej. Wirusa nie wykryto w narządach 11 norek, które padły w fermie o nieznanym statusie. W fermie tej nie było od wielu lat obrotu norek, stosowano ścisłą izolację stada od otoczenia oraz przeprowadzano systematyczne bieżące odkażanie klatek i pomieszczeń fermowych skutecznymi środkami odkażającymi. Padnięcia tych norek były więc spowodowane przez inne czynniki etiologiczne. Badania potwierdziły przydatność metody PCR w diagnostyce choroby aleuckiej norek w krajowych fermach norek. Metoda PCR jest przydatna w rzeczywistej ocenie stanu epizootycznego, a łącznie z sekwencjonowaniem umożliwia określenie charakterystyki molekularnej izolowanych szczepów choroby aleuckiej norek, co pozwala m.in. określić źródło zakażenia.

#### **Pismiennictwo:**

- [1] Oie K.L., Durrant G., Wolfenbarger J. B, Martin D., Costello E., Perryman S., Hogan D., Hadlow W.J., Bloom M.E., 1996. The relationship between capsid protein (VP2) sequence and pathogenicity of Aleutian mink disease parvovirus (ADV): a possible role for raccoons in the transmission of ADV infections, *J. Virol.*, 70, 852–861.

*Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki, grant nr N N308 586240.*



## PCR W DIAGNOSTYCE ZAKAŻNEGO ZAPALENIA MÓZGU I RDZENIA LISÓW

### PCR IN DIAGNOSTICS OF FOX INFECTIOUS ENCEPHALITIS

**Magdalena Wawro, Jan Siemionek, Anna Szczerba-Turek, Karolina Lipczyńska,  
Wojciech Szweda**

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail:wawro.magdalena@uwm.edu.pl*

W fermach lisów pospolitych okresowo obserwowane są objawy nerwowe, uważane najczęściej za główny objaw zakaźnego zapalenia mózgu i rdzenia lisów. W badanym stadzie u 3–4-miesięcznych lisów srebrzystych stwierdzono objawy nerwowe, które występowały u większej liczby lisów niż w latach ubiegłych. Obserwowano zwiększoną pobudliwość, drgawki, napady epileptyczne, skurcze mięśni kończyn, utrudnione poruszanie się lisów w klatce. Przebieg choroby w stadzie lisów i objawy kliniczne nasuwały podejrzenie zakaźnego zapalenia mózgu i rdzenia lisów wywołanego przez canine adenovirus type-1 (CAV-1). W diagnostyce laboratoryjnej tej choroby stosuje się test IF lub jeszcze bardziej specyficzny PCR.

**Cel badań:** Wykrycie w tkankach lisów DNA CAV-1 metodą PCR w celu potwierdzenia zakaźnego zapalenia mózgu i rdzenia lisów w fermie.

**Materiał i metody:** Materiał do badań molekularnych stanowiły próbki mózgu oraz wątroby pobrane od 6 chorych lisów. W badaniu metodą PCR zastosowano parę starterów opisaną przez Hu i wsp. [2]: HA1 5'-CGC GCT GAA CAT TAC TAC CTT GTC -3' oraz HA2 5'-CCT AGA GCA CTT CGT GTC CGC TT-3'. Sekwencja nukleotydomowa startera HA1 jest komplementarna do sekwencji w pozycjach 770 do 791 genomu CAV-1 oraz w pozycjach 1387 do 1408 genomu CAV-2. Natomiast sekwencja nukleotydomowa startera HA2 jest komplementarna do sekwencji w pozycjach 1274 do 1253 genomu CAV-1 oraz w pozycjach 2413 do 2392 genomu CAV-2. Kontrolę dodatnią zastosowaną w badaniach stanowiło DNA wirusa używanego do produkcji szczepionek. W dalszym etapie badań zastosowano parę specyficznych starterów CAV-1F (5'-CACTC-GAGATGGCCATCTTAATAT-3') i CAV-1R (5'-TCCTGCAGTTTAGAGCGGACCCTG-3') opisaną przez Chouinard i wsp [1]. Reakcja miała na celu amplifikację sekwencji o wielkości 411 pz z regionu genu kodującego białko p VII CAV-1.

**Wyniki i omówienie:** W wyniku przeprowadzonych badań metodą PCR nie wykryto DNA CAV-1 w badanych próbkach mózgu oraz wątroby lisów srebrzystych. Uzyskane wyniki wskazują na inną przyczynę występujących objawów nerwowych u badanych lisów o charakterze zakaźnym lub niezakaźnym.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Hu R.L., Huang G., Qiu W., Zhong Z.H., Xia X.Z., Yin Z., 2001. Detection and differentiation of CAV-1 and CAV-2 by polymerase chain reaction, *Vet. Res. Commun.* 25, 77–84.
- [2] Chouinard L., Martineau D., Forget C., Girard C., 1998. Use of polymerase chain reaction and immunohistochemistry for detection of canine adenovirus type 1 in formalin-fixed, paraffin-embedded liver of dogs with chronic hepatitis of cirrhosis, *J. Vet. Diagn. Invest.* 10, 320–325.



## ROPNIE OKOŁOWIERZCHOŁKOWE U KRÓLIKÓW – DIAGNOSTYKA I POSTĘPOWANIE

### PERIAPICAL ABSCESESSES OF RABBITS – DIAGNOSIS AND TREATMENT

Michał Wąsowicz<sup>1</sup>, Krzysztof Czyż<sup>2</sup>, Karolina Czyż<sup>2</sup>, Karolina Barszcz<sup>1</sup>, Maciej Cićkiewicz<sup>3</sup>,  
Marta Kupczyńska<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Nauk Morfologicznych, 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159

<sup>2</sup>Gabinet weterynaryjny VETMEDIC, 71-670 Szczecin, ul. Przyjaciół Żołnierza 80a

<sup>3</sup>Warszawski Uniwersytet Medyczny w Warszawie, Instytut Stomatologii, Szpital Dzieciątka Jezus, Zakład Stomatologii Zachowawczej, 00-246 Warszawa, ul. Miodowa 18  
e-mail: [michal.wasowicz@interia.eu](mailto:michal.wasowicz@interia.eu)

Ropnie okołowierzchołkowe zębów stwierdza się stosunkowo często u królików. Dotyczą głównie osobników powyżej 2.–4. miesiąca życia.

**Cel pracy:** Opracowanie metody leczenia ropni okołowierzchołkowych na podstawie wybranych przypadków klinicznych.

**Materiał i metody:** Przebadano 20 królików rasy miniaturowej (*Oryctolagus cuniculus* f. *domesticus*) w wieku 1–10 lat, obojga płci, będących pacjentami warszawskich i szczecińskich lecznic weterynaryjnych. W badaniu klinicznym stwierdzono długo trwający stan chorobowy, obejmujący okolice wierzchołkowe zębów oraz penetrujący do tkanki kostnej szczęki lub żuchwy. Lokalizację i stopień zaawansowania zmian potwierdzono badaniem radiologicznym. Wdrożone leczenie obejmowało ekstrakcję zębów zmienionych chorobowo oraz założenie miejscowego opatrunku do zębodołu. Porównano działanie trzech preparatów: metronidazolu (*Metronidazol*, 250 mg tabletki, Polpharma); okluzyjnego opatrunku dziąsłowego (*Septo-pack*, Septodont) oraz polimeru połączonego z antybiotykiem – AIPMMA z cefazoliną (*Biofazolin*, 1 g proszek, Polpharma). Ranę po ekstrakcji szwy szwem materacowym, typu przepuklinowy Franka.

**Wyniki i omówienie:** Głównymi czynnikami powstawania ropni okołowierzchołkowych są błędy żywieniowe, a w konsekwencji zaburzenia metaboliczne oraz wady genetyczne. Wśród pierwszych wymienić należy przede wszystkim zbyt wczesne odstawienie od matki, a w późniejszym okresie życia niedostateczny pobór wysoko włóknistych dodatków (warzyw, siana). Przyczyną jest tu karmienie królików gotowymi mieszankami. Mimo właściwego zbilansowania karmy poszczególne osobniki najczęściej wyjadają tylko atrakcyjne dla siebie składniki. W wyniku tego dochodzi do powstania nabytej choroby zębów (*acquired dental disease* – ADD), w stopniu od łagodnego do ostrego. Wśród wad genetycznych najważniejsze dotyczą zgryzu (prognatyzm i brachygnatyzm) [1, 2, 3]. Do występowania ropni przyczynia się także brak terapeutycznego postępowania dotyczącego profilaktyki zębów. Najczęstszymi bakteriami wnikającymi narastający stan zapalny są bakterie beztlenowe takie jak *Fusobacterium* spp., *Staphylococcus* spp. oraz *Streptococcus* spp. Zmian ropnych nie stwierdza się u królików dziko żyjących, a także bardzo rzadko u królików żywionych świeżymi i suchymi trawami. W dostępnej literaturze rekomendowane leczenie opiera się na kompleksie opatrunku w połączeniu z polimerem (antybiotyk nasycony polimetakrylanem metylu – AIPMMA) [1, 2, 3]. W przeprowadzonych obserwacjach własnych nie odnotowano znaczącej poprawy w ustępowaniu zmian ropnych po użyciu AIPMMA oraz Septo-pack, które umieszczano w zębodołach. Natomiast najlepsze rezultaty uzyskano po zastosowaniu metronidazolu w postaci miąższo rozdrobnionych tabletek. Stwierdzono również konieczność leczenia ogólnoustrojowego. Stosowano fluorochinolony, takie jak marbofloksacyna (*Marbocyl 10%*, Biowet Vetoquinol Gorzów Wielkopolski) w dawce 0,05 ml/kg s.c. co 24 h przez 14 dni oraz penicylinę G prokainową (*Penicillin LA*, Scanvet Poland) w dawce 0,5 ml/1,5 kg s.c. co 3 dzień.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Capello V.C., 2005. Rabbit and Rodent Dentistry. Handbook. Zoological Education Network. Florida.
- [2] Meredith A., 2007. Rabbit dentistry. EJCAP, 17, 1, 55–62.
- [3] Verstraete F.J.M., Osofsky A., 2005. Dentistry in Pet rabbits. CompendiumVet.com, September, 671–683.



## SYTUACJA EPIZOOTYCZNA ZWIERZĄT GOSPODARSKICH I WOLNO ŻYJĄCYCH NA TERENIE BIESZCZAD

### THE EPIZOOTIC SITUATION AMONG LIVESTOCK AND THE WILDLIFE IN THE AREA OF BIESZCZADY MOUNTAINS

Mirosław Welz<sup>1</sup>, Krzysztof Anusz<sup>2</sup>, Magdalena Zaleska<sup>2</sup>, Jerzy Kita<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Wojewódzki Inspektorat Weterynarii z/s w Krośnie, ul. Ściegiennego 6A, 38-400 Krosno, m-welz@o2.pl

<sup>2</sup>Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,  
ul. Nowoursynowska 159C.

Zagadnienia zdrowia zwierząt wolno żyjących są przedmiotem zainteresowania wielu dziedzin nauki, w tym epidemiologii, od kilkudziesięciu lat. Przedmiotem przeprowadzonych badań była ocena występowania zakażeń bakteryjnych i wirusowych na terenie Bieszczad, ze szczególnym uwzględnieniem zakażeń prątkami gruźlicy u zwierząt gospodarskich i wolno żyjących. Badania przeprowadzono w dwóch etapach. Celem pierwszego z nich było zebranie informacji na temat występowania chorób zakaźnych u tych zwierząt oraz wykonanie przeglądowych badań serologicznych. W drugim etapie podjęto próby izolacji szczepów *Mycobacterium* pochodzących od różnych gatunków zwierząt wolno żyjących i bydła.

**Materiał i metody:** W pierwszym etapie materiał do badań stanowiły dane z ksiąg zaraźliwych chorób zwierzęcych i sprawozdań oraz dokumentacja monitoringu i zwalczania chorób zakaźnych zwierząt, dotyczące sytuacji epizootycznej terenu w latach 1991–2008, a także wyniki własnych badań serologicznych 1519 próbek krwi zwierząt gospodarskich (bydła, świń, owiec i kóz) oraz 107 próbek krwi zwierząt wolno żyjących (jelenie, sarny, dziki). Badania serologiczne prowadzono w kierunkach zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy/zapalenia błony śluzowej sromu i pochwy, wirusowej biegunki bydła i choroby błon śluzowych, *Leptospira interrogans*, brucelozy bydła, choroby maedi/visna, choroby Aujeszkyego, zespołu rozrodczo-oddechowego świń oraz klasycznego pomoru świń. W drugim etapie przeprowadzono badania anatomopatologiczne, bakteriologiczne i molekularne w kierunku wykrywania gruźlicy próbek węzłów chłonnych pobranych od 181 zwierząt gospodarskich i wolno żyjących z terenu Bieszczad. W badaniach uwzględniono także analizę danych epidemiologicznych o występowaniu gruźlicy u ludzi na tym terenie.

**Wyniki i omówienie:** Badania serologiczne wykazały występowanie pozytywnych reakcji serologicznych w badanych grupach zwierząt w odniesieniu do wirusowej – biegunka bydła i choroby błon śluzowych, *Leptospira interrogans*, choroby maedi/visna oraz choroby Aujeszkyego. Wyniki badań przeprowadzonych w kierunku wykrywania gruźlicy wykazały obecność trzech gatunków *Mycobacterium*, w tym *M. bovis* (żubry, krowy i borsuk), *M. tuberculosis* (krowa, wilki) oraz *M. avium* (jeleniowate i dziki), a przeprowadzona analiza podobieństwa genetycznego izolowanych prątków pozwoliła na postawienie tez dotyczących źródeł ich pochodzenia. Opracowano także zalecenia do kontroli występowania zakażeń gruźlicą u zwierząt wolno żyjących.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Anusz K., 2008. Sprawozdanie z projektu badawczego. Sąsiedztwo bytowania żubrów oraz innych zwierząt wolno żyjących i bydła domowego w Bieszczadach a krążenie *Mycobacterium bovis*.
- [2] Welz M., Anusz K., Salwa A., Zaleska M., Bielecki W., Osińska B., Kaczor S., Kita J., 2005. Gruźlica bydła u żubrów w Bieszczadach. Med. Wet., 61 (4), 441–444.





## ZMIANY PATOLOGICZNE W PŁUCACH DZIKÓW POWODOWANE INWAZJĄ NICIENI Z RODZAJU METASTRONGYLUS

### PATHOLOGICAL CHANGES IN THE LUNGS OF WILD BOARS CAUSED BY THE INVASION OF NEMATODES OF THE METASTRONGYLUS GENUS

Magdalena Wereszczyńska<sup>1</sup>, Zenon Sołtysiak<sup>2</sup>, Józef Nicpoń<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów, <sup>2</sup>Zakład Parazytologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław, e-mail: m.wereszczyńska@gmail.com

**Wstęp:** Inwazje pasożytniczych nicieni z rodziny *Metastrongylidae* są bardzo często obserwowaną parazytozą u dzikich świniowatych. Nicienie płucne występujące u tych zwierząt są również uważane za czynnik ograniczający liczebność populacji dzików (*Sus scrofa*), powodując wzrost śmiertelności, zwłaszcza wśród młodych osobników. Do zarażenia dzików nicieniami z rodzaju *Metastrongylus* dochodzi za pośrednictwem żywicieli pośrednich – dżdżownic z gatunków *Lumbricus terrestris*, *Heladrilus foetidus*. Dżdżownice zarażają się larwami LI, które następnie przedostają się do naczyń krwionośnych przełyku lub jego ściany, tam linieją dwukrotnie i osiągają po około 3 tygodniach stadium inwazyjne LIII. Zarażanie dzików następuje przez zjedzenie dżdżownic z inwazyjnymi larwami nicieni płucnych. W świetle przewodu pokarmowego dzików następuje uwolnienie larw LIII. Następnie larwy przedostają się do węzłów chłonnych krezkowych, gdzie odbywają dwa linienia, po czym wraz z chłonką dostają się do układu krwionośnego, a stąd małym krwiobiegiem do płuc. Po dotarciu do oskrzelików i oskrzeli nicienie dojrzewają płciowo. Dojrzałe nicienie bytują w małych i większych oskrzelach, gdzie samice składają jaja. Wykaślane i połknięte jaja, w momencie wydalania z kałem do środowiska zewnętrznego, zawierają w pełni wykształconą larwę LI. Okres prepatentny trwa 4–5 tygodni.

**Cel pracy:** Przedstawienie zmian patologicznych i histopatologicznych w płucach dzików naturalnie zarażonych nicieniami z rodzaju *Metastrongylus*.

**Materiał i metody:** Płuca 10 dzików sekcjonowano. Do badań histopatologicznych pobrano wycinki płuc dzików, u których w śluzie oskrzelowym wykazano obecność nicieni z rodzaju *Metastrongylus*. Wycinki utrwalono w 8% formalinie. Preparaty barwiono hematoksyliną i eozyną (H-E).

**Wyniki i omówienie:** Płuca wszystkich 10 dzików były niebieskosine, a mięsz w próbie wodnej był bezpowietrzny. Wykazano zmiany o charakterze nieżyłowego zapalenia oskrzeli oraz odoskrzelowego zapalenia płuc. Zmiany te występowały głównie w płatach podstawowych obu płuc. W śluzie obecnym w świetle oskrzelików i oskrzeli stwierdzono obecność licznych nicieni. W obrazie histopatologicznym formy larwalne wędrujące do oskrzeli powodowały uszkodzenie mięszu płucnego, obecność nacieków limfocytarnych, eozynofilii i makrofagów oraz liczne wynacznienia erytrocytów do światła pęcherzyków. Obecność dojrzałych nicieni w drzewie oskrzelowym, ich przemieszczanie się oraz wydzielane antygeny i wydaliny powodowały stan zapalny drzewa oskrzelowego, a następnie proces zapalny przenosił się na tkankę okołooskrzelową i pęcherzyki płucne, powodując odoskrzelowe zapalenie płuc. W dalszym przebiegu uszkodzone obszary płucne ulegały procesowi reoperacji na skutek procesów włóknienia ziarniny zapalnej prowadząc do rozległych zwłóknień płuc.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Encyclopedic Reference of Parasitology (Biology, Structure, Function) Mehlhorn H. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York 2001.
- [2] Taylor M.A., Coop R.L., Wall R.L., 2007. Veterinary Parasitology, Blackwell Publishing, third edition.
- [3] Nosal P., Kowal J., Nowosad B., 2010. Structure of *Metastrongylidae* in wild boars from southern Poland, *Helminthologia*, 47, 4, 212–218.
- [4] Tarczyński S., 1959. Robaki pasożytnicze i powodowane przez nie robaczycze świń, PWN, Warszawa, 198–216.



# WYSTĘPOWANIE *NOSEMA SPP.* W WYBRANYCH PASIEKACH WOJEWÓDZTWA ŚLĄSKIEGO W TRAKCIE 10-LETNICH BADAŃ

## TEN-YEAR STUDY OF THE OCCURRENCE OF *NOSEMA SPP.* IN SELECTED APIARIES IN SILESIA

Agnieszka Wójcik, Paweł Chorbiński

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, Pracownia Chorób Owadów Użytkowych, pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław, e-mail: agnieszka.wojcik@up.wroc.pl

Grzyby należące do rodzaju *Nosema* są czynnikiem etiologicznym choroby sporowcowej (*nosemosis*) u pszczoły miodnej (*Apis mellifera* L.). Obecnie w naszym kraju nosemoza pszczoł jest wywoływana przez 2 gatunki sporowców: *N. apis* i *N. ceranae*. Stanowi ona istotny problem zdrowotny i ekonomiczny w gospodarce pasiecznej. Choroba dotyczy pszczoł dorosłych, powodując u nich znaczne zaburzenia w układzie pokarmowym, osłabienie organizmu i znaczące skrócenie czasu życia. Rozwijająca się w rodzinie pszczelej infekcja *N. ceranae* może w ciągu 2 lat doprowadzić nawet do śmierci rodziny pszczelej.

**Cel badań:** Analiza częstości występowania *Nosema spp.* w wybranych pasiekach województwa śląskiego w ciągu 10 lat (2002–2011).

Materiał do badań stanowiło 2711 prób pszczoł z osypów zimowych, pobranych z pasiek leżących na terenie Śląska w latach 2002–2011. Przeprowadzono badanie parazytologiczne metodą Kirkora, oceniając stopień zakażenia pszczoł przez *Nosema spp.* z wykorzystaniem 3-stopniowej skali wyrażonej w plusach (+, ++, +++). W trakcie badań uwzględniono także występowanie cyst pełzaka pszczelego (*Malpighamoeba mellificae*) oraz zakażeń drożdżycowych. W trakcie 10-letnich obserwacji wykazano, że średni stopień porażenia rodzin pszczelich przez sporowce z rodzaju *Nosema* wynosi 20,1%. Najniższe porażenie zanotowano w 2003 r. (7,62%) a najwyższe w 2010 roku (39,1%) (tabela).

Tabela. Występowanie (w %) nosemozy, pełzakowicy i drożdżycy w osypach zimowych pszczoł w latach 2002–2011, pochodzących z wybranych pasiek województwa śląskiego

Rok	ilość prób	Nosemoza				Pełzakowica			Drożdżycy		
		+++	++	+	ogółem	razem	osobno	ogółem	razem	osobno	ogółem
2002	238	5,04	8,40	14,71	28,15	13,03	0,84	13,87	3,78	25,63	29,41
2003	210	0,95	3,33	3,33	7,62	0,00	0,95	0,95	0,48	11,90	12,38
2004	254	1,97	3,15	7,48	12,60	2,36	1,97	4,33	1,18	28,74	29,92
2005	310	3,55	7,10	5,48	16,13	3,23	0,65	3,87	0,97	19,03	20,00
2006	277	3,25	6,86	9,03	19,13	1,44	0,00	1,44	0,72	18,77	19,49
2007	213	1,88	4,23	4,69	10,80	3,76	1,41	5,16	1,88	30,05	31,92
2008	354	1,69	5,65	5,93	13,28	1,41	0,00	1,41	1,69	13,56	15,25
2009	342	0,58	4,68	10,53	15,79	0,88	0,00	0,88	2,05	8,48	10,53
2010	133	0,75	13,53	24,81	39,10	2,26	0,00	2,26	4,51	22,56	27,07
2011	380	7,63	13,16	17,63	38,42	1,32	0,00	1,32	17,37	13,42	3,95
Razem	2711	2,73	5,42	10,36	20,10	2,97	0,58	3,55	3,46	19,21	19,99

Opis: „razem” – jednoczesne występowanie wraz z nosemozą, „osobno” – bez nosemozy.

Od roku 2010 ilość zakażonych rodzin utrzymuje się na bardzo wysokim poziomie (38–39%), a w 2011 r. zwiększył się znacząco odsetek rodzin z silnym stopniem porażenia (+++). Może to być związane z masowym rozpowszechnieniem się w krajowych pasiekach stosunkowo nowego gatunku sporowca, jakim jest *Nosema ceranae* i prawdopodobnie w stosunku do niego nie wytworzyła się jeszcze odpowiednia równowaga gospodarz – pasożyt.

### Piśmiennictwo:

- [1] Fries I., 2010. *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). J. Invertebr Pathol. Jan, 103 Suppl 1, S73–9.
- [2] Topolska G., Hartwig A., 200. Diagnosis of *Nosema apis* infection by investigations of two kinds of samples: dead bees and live bees. J. Apicult Sci., 49: 75–79.



## ANALIZA GENETYCZNA KRAJOWYCH SZCZEPÓW WIRUSA KRWOTOCZNEJ CHOROBY ZAJĘCY

### THE GENETIC ANALYSIS OF POLISH STRAINS OF EBHS VIRUS

Marta Chrobocińska<sup>1</sup>, Ewa Kwit<sup>1</sup>, Zbigniew Grądzki<sup>2</sup>, Łukasz Jarosz<sup>2</sup>, Barbara Majer-Dziedzic<sup>3</sup>, Ewelina Bigoraj<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Wirusologii Żywności i Środowiska, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mchrob@piwet.pulawy.pl

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>2</sup>Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin, <sup>3</sup>Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Zakażenia wirusem krwotocznej choroby zajęcy (EBHSV – European brown hare syndrome virus) są notowane w krajach europejskich od lat 80. XX w. W ostatnich latach wykryto nowe szczepy wirusa EBHS: 3 – we Francji, 2 – w Niemczech i 3 – na Słowacji [1, 2]. W kraju w czterech prywatnych hodowlach kwaterowych, zlokalizowanych na terenie różnych województw, w miesiącach wiosennych 2011 r. obserwowano nagłe, masowe padnięcia zajęcy. Badania metodą ELISA potwierdziły obecność antygeny wirusa EBHS.

**Cel badań:** Analiza genetyczna nowych szczepów wirusa EBHS wobec szczepów krajowych wcześniej wykrytych oraz szczepów zagranicznych.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 12 próbek wycinków narządów wewnętrznych (wątroba, śledziona), pobranych od padłych zajęcy. Metodą RT-nested PCR amplifikowano fragmenty genu kodującego białko kapsydu, zlokalizowane w regionie zmiennym genu. Uzyskane produkty poddano sekwencjonowaniu. Na podstawie otrzymanych sekwencji przeprowadzono analizę genetyczną, w której wykorzystano sekwencje 3 szczepów krajowych z lat 1992, 1998 i 2001 oraz 12 sekwencji szczepów zagranicznych dostępnych w bazie danych GenBank.

**Wyniki i omówienie:** W 6 próbkach pochodzących z 3 hodowli stwierdzono obecność wirusa metodą RT-nested PCR. Analiza genetyczna wykazała identyczność 3 z 5 szczepów w sekwencji 1005 nukleotydów. Pochodziły one od zajęcy z 2 różnych hodowli, lecz prawdopodobnie reprezentują jeden szczep wirusa. Podobieństwo dwóch pozostałych szczepów było również bardzo wysokie (98–99%). Porównując ze szczepami zagranicznymi, przeprowadzono analizę fragmentu długości 220 nukleotydów. Nowe szczepy krajowe w drzewie filogenetycznym były zgrupowane razem z 2 szczepami z Francji, 2 z Niemiec i 1 ze Słowacji, wykrytymi w ostatnich latach. Homologia pomiędzy nowymi szczepami krajowymi sięgała 99–100%, zaś wobec tych szczepów zagranicznych była również bardzo wysoka (98–99%). Szczepy pochodzące z lat 1989–1992 były zgrupowane w osobnej gałęzi drzewa, z podobieństwem do nowych szczepów wynoszącym 91–95%. Stwierdzono również niższe podobieństwo nowych szczepów wobec szczepów krajowych z lat 1998 i 2001 (92–95%). Nowe szczepy krajowe i zagraniczne, zgrupowane w jednej gałęzi drzewa, wykazały identyczne substytucje w przewidywanej sekwencji 73 aminokwasów w pozycjach: 417 L→M i 427 V→T. Ta ostatnia wystąpiła także w szczepach krajowych z 1998 i 2001 r. Uzyskane wyniki mogą potwierdzać hipotezę, że zmienność genetyczna szczepów EBHSV jest związana raczej z czasem niż z miejscem izolacji.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Frölich K., Fickel J., Ludwig D., Streich W.J., Jurčík R., Slamečka J., Wibbelt G., 2008. New variants of European brown hare syndrome virus strains in free-ranging European brown hares (*Lepus europaeus*) from Slovakia. *J. Wildl. Dis.*, 43, 89–96.
- [2] Drews B., Szentiks C.A., Roellig K., Fickel J., Schroeder K., Duff J.P., Lavazza A., Hildebrandt T.B., Goeritz F., 2011. Epidemiology, control and management of an EBHS outbreak in captive hares. *Vet. Microbiol.* 154, 37–48.



## WYSTĘPOWANIE KWASOOPORNYCH PRĄTKÓW U ZWIERZĄT MIEJSKIEGO OGRODU ZOOLOGICZNEGO W GDAŃSKU W LATACH 1991–2011

### THE OCCURRENCE OF ACID-FAST BACILLI IN ANIMALS OF GDAŃSK MUNICIPAL ZOOLOGICAL GARDEN IN THE YEARS 1991–2011

Mirosław Kalicki

Miejski Ogród Zoologiczny Wybrzeża w Gdańsku, 80-328 Gdańsk, ul. Karwieńska 3, e-mail: mkalicki@zoo.gd.pl

Istotny problem w hodowli zwierząt w ogrodach zoologicznych mogą stanowić choroby wywoływane przez kwasooporne prątki. Infekcjom spowodowanym tymi patogenami sprzyja utrzymywanie zwierząt na tych samych wybiegach przez wiele lat w wielopokoleniowych grupach.

**Cel badań:** Eliminacja z gdańskiego ZOO chorób wywoływanych przez kwasooporne prątki stanowiących poważne zagrożenie zdrowia publicznego.

**Materiały i metody:** Podstawą badań zwierząt był test tuberkulinowy wykonywany zgodnie z instrukcją odnoszącą się do zwierząt gospodarskich oraz badania sekcyjne (padłych i wyeliminowanych z hodowli zwierząt), podczas których pobierano materiał do badań laboratoryjnych. Tuberkulinizacje przeprowadzano przed dołączeniem do stad nowych osobników oraz gdy objawy chorobowe sugerowały możliwość wystąpienia gruźlicy. Osobniki reagujące dodatnio na tuberkulinę były usuwane ze stada i eliminowane, zaś wszystkie inne zwierzęta mające kontakt z chorymi osobnikami, a zwłaszcza pozostałe sztuki z danego stada obowiązkowo poddawane były tuberkulinizacji. Zwykle stwierdzenie aktywnej choroby u jednego osobnika w grupie skutkowało eliminacją całego stada.

**Wyniki i omówienie:** W latach 1991–2011 w gdańskim ZOO, utrzymującym stale pogłowie około tysiąca zwierząt, wyeliminowano z kolekcji 28 zwierząt (ssaków) z powodu stwierdzenia lub podejrzenia gruźlicy. Dodatkowo badania sekcyjne padłych zwierząt były podstawą do stwierdzenia lub podejrzenia wystąpienia zakażenia prątkami kwasoopornymi u kolejnych 21 zwierząt, w tym 12 ssaków, 8 ptaków i 1 gada. Laboratoryjnie udało się potwierdzić trzy przypadki zachorowań tapirów wywołanych przez *Mycobacterium tuberculosis*, czternaście przypadków choroby wywołanej infekcją *M. bovis* (u 8 bizonów oraz 6 antylop), a także sześć przypadków infekcji wywołanych przez *M. avium* (u łabędzia i 5 antylop). Pozostałe zachorowania nie zostały potwierdzone laboratoryjnym badaniem zakończonym typizacją prątka, jednakże wystąpienie choroby podejrzewano na podstawie stwierdzenia bakterii kwasoopornych w badaniu mikroskopowym, charakterystycznych zmian anatomopatologicznych lub reakcji na podaną śródskórną tuberkulinę.

Stwierdzone zachorowanie tapirów na gruźlicę spowodowaną prątkiem ludzkim prawdopodobnie świadczy o tym, że patogen przeniesiony został z chorego człowieka na zwierzęta. Gdańskie ZOO odwiedzane jest rocznie przez kilkaset tysięcy zwiedzających, nie można wykluczyć, że wśród nich bywają też osoby chore na gruźlicę. Rozpoznany w stadzie bizonów prątek bydłocy przypuszczalnie występował w tym stadzie przez wiele lat, lecz stwierdzony został dopiero po wystąpieniu objawów chorobowych, zaś spowodowane tym patogenem zachorowanie nowo sprowadzonych antylop świadczy o nieskuteczności przeprowadzanych przed transportem badań w kierunku gruźlicy. W przenoszeniu czynników zakaźnych nie można też wykluczyć roli zwierząt wolno żyjących, zwłaszcza dzikich ptaków mogących być rezerwuarem prątków ptasich. Właśnie dzikie ptaki uznano za źródło prątków ptasich, które spowodowały chorobę w stadzie antylop.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kalicki M., Rutkowiak B., 1994. Przypadek gruźlicy płuc u antylopy oryks arabski (*Oryx leucoryx*). Mag. Wet., 6 (14), 30.
- [2] Kalicki M., Krause I., 2010. Przypadek choroby wywołanej ptasimi prątkami u antylopy oryks szablrogi. Med. Wet. 66 (1), 66–68.
- [3] Kalicki M., Krajewska M., 2011. Case of tuberculosis in a Defassa Waterbuck (*Kobus ellipsiprymnus defassa*). Med. Wet. 67 (7), 499–500.
- [4] Kalicki M., Zwierzęta wolno żyjące jako potencjalne źródło prątków *Mycobacterium avium*. Materiały sesji PTNW Choroby zwierząt wolno żyjących, Gdańsk 2009, 20–23.
- [5] Kalicki M., Strzałkowski L., Kopczewski A., 2004. Wyniki badań bakteriologicznych zwierząt gdańskiego ZOO w latach 1995–1999. XII Kongres PTNW, Warszawa, 379.





## TRZY PRZYPADKI RAKA PŁASKONABŁONKOWEGO POWIEK U AGAMY BRODATEJ *POGONA VITICEPS*

### THREE CASES OF SQUAMOUS CELL CARCINOMA IN BREADED DRAGONS *POGONA VITICEPS*

Aleksandra Maluta

Przychodnia Weterynaryjna Szpital Zwierząt Egzotycznych „OAZA”, ul. Potocka 4, Warszawa 01-652,  
e-mail: amaluta@wp.pl

**Wstęp:** Do niedawna uważano, że gady sporadycznie dotykane są przez chorobę nowotworową. Dziś, gdy stanowią sporą grupę potencjalnych klientów, lekarze weterynarii korzystają z większej ilości technik diagnostycznych. Wydaje się, że właśnie w efekcie tego jest coraz więcej doniesień dotyczących nowotworów u gadów. Wiedza dotycząca przebiegu wielu chorób oraz terapii onkologicznej gadów nadal jest niedostateczna.

**Cel pracy:** Poznanie przyczyn powstawania zmian rozrostowych na powiekach u jednego z najpopularniejszych gatunków jaszczurek utrzymywanych przez osoby prywatne, jakim jest agama brodata *Pogona viticeps*.

**Materiał i metody:** Badaniom poddanych zostało 5 agam brodatych, 3 samce i 2 samice w wieku od 1,5–5 lat, u których w badaniu klinicznym stwierdzono zmiany w obrębie powiek. Wszystkie jaszczurki poddano dokładnemu badaniu klinicznemu, parazytologicznemu badaniu kału, w dwóch przypadkach ze zmian na powiekach pobrano materiał na badania bakteriologiczne i mikologiczne. Od wszystkich zwierząt pobrano wycinki zmienionych powiek do badania histopatologicznego. Pobrany materiał utrwalony został w roztworze formaliny, a następnie dokonano rutynowego barwienia metodami: H&E, PAS i Zihel – Neelsen.

**Wyniki:** U trzech osobników stwierdzono znacznych rozmiarów zmiany rozrostowe na jednej z powiek, u dwóch z nich uniemożliwiające otwarcie oka. U pozostałych wykazano ubytki naskórka i owrzodzenia na powiekach, ogonie i okolicy łędźwiowej oraz kończynach.

W badaniu parazytologicznym kału u wszystkich osobników stwierdzono obecność jaj owsików, u 3 cyst kokcydiów *Isoospora sp.* W badaniu histopatologicznym wycinków pobranych z powiek od 3 osobników ze zmianami rozrostowymi stwierdzono łagodną hiperkeratozę ortokeratocytową i łagodny przerost. W powierzchownych warstwach skóry zaobserwowano umiarkowane zróżnicowane wzrost guza komórek podstawnych z rogowaceniem i tworzeniem pereł keratyny. Inwazyjne komórki podstawy tworzyły skupiska, sznury i beleczki. Wzrost o charakterze inwazyjnym z umiarkowanym indeksem mitotycznym, zmiany sięgały do brzegów próbki. Rozpoznanie – rak płaskonabłonkowy.

**Omówienie:** Rak płaskonabłonkowy to złośliwy nowotwór, w przypadku którego rokowanie jest ostrożne, możliwe są nawroty i przerzuty, przy czym u gadów częściej występują nawroty niż przerzuty. Rak płaskonabłonkowy stanowi 6% nowotworów występujących u *P. viticeps*. Powieka wydaje się być miejscem predylekcyjnym do występowania tego nowotworu. W związku z pojawieniem się w hodowli mutacji agam o ograniczonej ilości łusek i bezłuskich należy brać pod uwagę, że mogą być one bardziej podatne na nowotwory.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Burcham J.C., Ophthalmic squamous cell carcinoma in a bearded dragon. Exotic DVM vol.10.1p.3.
- [2] Bayón del Río A., Exotic ophthalmology I. Proceedings of 2009 WSAVA Congress Sao Paulo Brazil.
- [3] Garner M.M., 2004. Trends in Reptilian Neoplasia: Diagnostician's Perspective; 55th Annual Meeting of ACVP & 39th Annual Meeting of ASVCP November, www.ivis.org.
- [4] Hannon D., Squamous cell carcinoma in inland bred dragons *Pogona viticeps*. Proceedings ARAV 2011, 131.
- [5] Oros, J., Tucker S., Fernandez L., Jacobson E.R., 2004. Metastatic squamous cell carcinoma in two loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. Diseases of Aquatic Organisms 58 (2–3), 245–250.





## SYTUACJA EPIZOOTYCZNA WŚCIEKLIZNY W POLSCE PO 10 LATACH UODPORNIEŃ LISÓW PRZECIWKO WŚCIEKLIZNIE

### EPIZOOTIOLOGY OF RABIES AFTER 10 YEARS OF ORAL RABIES VACCINATION OF FOXES IN POLAND

**Anna Orłowska, Paweł Trębas, Marcin Smreczak, Jan Franciszek Żmudziński**

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy,  
e-mail: anna.orłowska@piwet.pulawy.pl*

**Wstęp:** Wścieklizna jest ostrą chorobą zakaźną kończącą się z reguły zejściem śmiertelnym. Na zakażenie wirusem wścieklizny wrażliwe są wszystkie zwierzęta stałocieplne, w tym także człowiek. Transmisja zakażenia następuje zazwyczaj wraz ze śliną chorego zwierzęcia przez pogryzienie. Bezpośrednio po zakończeniu II wojny światowej pies stanowił główny rezerwuuar wścieklizny w Polsce. Wprowadzenie obowiązkowych szczepień psów przeciwko wściekliznie znamienne zredukowało występowanie choroby u zwierząt tego gatunku. Jednak w 1957 r. nastąpił niepokojący wzrost liczby przypadków wścieklizny u zwierząt wolno żyjących, szczególnie u lisów. Od 1993 r. w Polsce rozpoczęto wykładanie szczepionki na obszarze ówczesnych województw graniczących z Niemcami, a od 2002 r. akcja objęła swoim zasięgiem cały kraj. Jednym z elementów monitorowania efektów akcji doustnego uodporniania lisów przeciwko wściekliznie jest analiza sytuacji epidemiologicznej na obszarze wykładania szczepionki.

**Cel pracy:** Przedstawienie sytuacji epizootycznej wścieklizny w Polsce po 10 latach walki z wścieklizną lisów poprzez stosowanie doustnej immunizacji.

**Materiał i metody:** Analizy oraz oceny sytuacji epidemiologicznej dokonano na podstawie danych o każdym zdiagnozowanym przypadku wścieklizny. Bezpośredni materiał do badań diagnostycznych stanowiły próbki z terenu pochodzące od zwierząt podejrzanych o wściekliznę, zwierząt padłych z objawami nerwowymi, zwierząt które uległy wypadkom komunikacyjnym bądź też zostały znalezione jako martwe. Wśród badanych zwierząt były również lisy odstrzelone w związku z akcją monitoringu efektywności doustnego uodporniania lisów przeciwko wściekliznie.

**Wyniki i omówienie:** Począwszy od 2002 r. obserwuje się znaczący spadek liczby przypadków wścieklizny z 1183 w 2002 r. do 8 w roku 2009, z których 2 wystąpiły u nietoperzy i 6 u lisów. W 2010 roku w województwie małopolskim, wolnym od wścieklizny od 7 lat, odnotowano „wybuch wścieklizny”. Łącznie w 2010 r. stwierdzono 151 przypadków wścieklizny, w tym 118 w województwie małopolskim. Wściekliznę zdiagnozowano głównie u zwierząt wolno żyjących (123 przypadki wścieklizny), w tym u lisów (103 przypadki). 22 przypadki wścieklizny odnotowano u zwierząt domowych oraz 6 przypadków wścieklizny u nietoperzy. Podobną liczbę przypadków wścieklizny zdiagnozowano w 2011 r. Wśród 160 przypadków (w tym 60 w województwie małopolskim i 63 przypadki w województwie podkarpackim) 122 przypadki dotyczyły zwierząt wolno żyjących (103 przypadki u lisów), 34 przypadki zarejestrowano u zwierząt domowych i 4 przypadki u nietoperzy. W żadnym z analizowanych przypadków wścieklizny występujących u zwierząt wolno żyjących od 2006 r. czynnikiem etiologicznym nie był wirus wykorzystywany w szczepionkach do doustnego uodporniania lisów przeciwko wściekliznie.

Dotychczasowe wyniki wskazują na dobrą skuteczność akcji zwalczania wścieklizny poprzez doustne uodpornianie lisów wolno żyjących. Notowane obecnie przypadki wścieklizny u zwierząt w kraju zlokalizowane są głównie na obszarze województw tzw. ściany wschodniej bezpośrednio graniczących z krajami (Ukraina, Białoruś), gdzie nie prowadzi się zwalczania wścieklizny zwierząt wolno żyjących poprzez ich doustne uodpornienie.



## POSZUKIWANIE REZERWUARÓW PRĄTKÓW GRUŻLICY WŚRÓD SSAKÓW DRAPIEŻNYCH I GRYZONI NA TERENIE BIESZCZAD

### RECOGNITION OF THE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX RESERVOIRS AMONG FREE-LIVING CARNIVORES AND RODENTS IN THE BIESZCZADY REGION

Blanka Orłowska<sup>1</sup>, Krzysztof Anusz<sup>1</sup>, Mirosław Welz<sup>3</sup>, Andrzej Salwa<sup>4</sup>, Magdalena Zaleska<sup>2</sup>, Jerzy Kita<sup>1</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,

<sup>1</sup>Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego, 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159,

<sup>2</sup>Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159C

<sup>3</sup>Podkarpacki Wojewódzki Inspektorat Weterynarii, ul. Ks. Ściegiennego 6a, 38-400 Krosno

<sup>4</sup>Zakład Higieny Weterynaryjnej, 80-316 Gdańsk, ul. Kaprów 10

e-mail: orłowska.blanka@gmail.com

**Wstęp:** Gruźlica jest nadal jedną z najczęściej występujących chorób na świecie. Wywołują ją bakterie z grupy *Mycobacterium tuberculosis complex*. Wszystkie prątki z tej grupy stwarzają zagrożenie dla ludzi i zwierząt. Badania na terenie Bieszczad zostały podjęte w związku ze stwierdzeniem gruźlicy ludzkiej (zakażenie *M. tuberculosis*) u wilków i gruźlicy bydłowej (zakażenie *M. bovis*) u borsuka oraz z faktem endemicznego występowania gruźlicy bydłowej w stadach bieszczadzkich żubrów [4, 5]. Rezerwuar prątka wśród zwierząt wolno żyjących stanowi realne zagrożenie dla zwierząt domowych (szczególnie bydła) jak i ludzi.

**Cel pracy:** Rozpoznanie rezerwuarów prątków gruźlicy wśród ssaków drapieżnych i gryzoni na terenie Bieszczad.

**Materiał i metody:** Do badań pobierane są węzły chłonne i wycinki narządów zmienionych chorobowo od zwierząt wolno żyjących z rzędu drapieżnych (*Carnivora*) i gryzoni (*Rodentia*). Do tej pory pozyskano materiał od 223 zwierząt (170 lisów, 15 borsuków, 4 wilków, 1 kuny i 33 gryzoni). Próby od pierwszych 90 lisów zostały zebrane w 43 próby zbiorcze. Pozyskany materiał został zbadany mikrobiologicznie według typowej procedury izolacji prątków kwasoopornych. Prowadzona jest również analiza molekularna uzyskanych szczepów.

**Wyniki i omówienie:** Wzrost kolonii prątków kwasoopornych uzyskano w 11 z 43 prób zbiorczych i w 55 z 180 próbek indywidualnych. W celu dokładnej identyfikacji gatunkowej prowadzone są badania molekularne. W Polsce dotychczas nie były prowadzone na szerszą skalę badania nad występowaniem gruźlicy wśród wolno żyjących ssaków drapieżnych i gryzoni. Na świecie izolacje *M. bovis* wśród ssaków drapieżnych odnotowane zostały m.in. u lisów, kojotów oraz ssaków z rodziny łasicowatych, jak np. borsuki [1]. Dotychczas izolowano *M. bovis* od ryjówek, różnych gatunków myszy i norników w Wielkiej Brytanii [2].

#### Pismiennictwo:

- [1] Aranaz A., Juan L., de Montero N., Sánchez C., Galka M., Delso C., Alvarez J., Romero J., Bezos J., Vela A.I., Briones V., Mateos A., Domínguez L., 2004. Bovine tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) in wildlife in Spain. *J. Clin. Microbiol.*, 42,2602–2608.
- [2] Delahay R.J., Smith G.C., Barlow A.M., Walker N., Harris A., Clifton-Hadley R.S., Cheeseman C.L., 2007. Bovine tuberculosis infection in wild mammals in the South-West region of England: a survey of prevalence and a semi-quantitative assessment of the relative risks to cattle. *Vet. J.*, 173, 287–301.
- [3] Perumaalla V.S., Adams L.G., Payeur J.B., Jarnagin J.L., Baca D.R., Guemes F.S., Ficht T.A., 1996. Molecular Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in Texas and Mexico. *J. Clin. Microbiol.*, 34, 2066–2071.
- [4] Welz M., 2010. The epizootic situation among livestock and the wildlife in the area of Bieszczady Mountains considering the *Mycobacterium bovis* infections. PhD thesis. Warsaw.
- [5] Żurawski C., Lipiec M., 1997. Przypadek uogólnionej gruźlicy u żubra. *Med. Wet.*, 53, 90–92.



## MNOGIE OPONIAKI PRZEJŚCIOWE (*MENINGIOMA TRANSITIONALE, MIXTUM*) U TCHÓRZOFRETEK

### MULTIPLE TRANSITIONAL MENINGIOMA (*MENINGIOMA TRANSITIONALE, MIXTUM*) IN A FERRET

Tomasz Piasecki<sup>1</sup>, Zenon Sołtysiak<sup>2</sup>, Michał Bednarski<sup>1</sup>, Magdalena Wereszczyńska<sup>1</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, pl. Grunwaldzki 45, 50-559 Wrocław, <sup>2</sup>Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów; Zakład Parazytologii, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Klasyfikacja nowotworów wywodzących się z komórek układu nerwowego opiera się na kryteriach histologicznych i cytologicznych. Dzięki temu możliwe jest określenie jego pochodzenia, parametrów wzrostu czy stopnia zróżnicowania komórek guza. Według ogólnej klasyfikacji WHO nowotwory układu nerwowego dzieli się na wywodzące się z ośrodkowego układu nerwowego i obwodowego układu nerwowego, a ponadto na zmiany pierwotne i wtórne. Oponiaki (*meningioma*) są wewnątrzczaszkowymi nowotworami ośrodkowego układu nerwowego (oun) wywodzącymi się z pierwotnych komórek nerwowych.

**Opis przypadku:** Tchórzofretka, samiec w wieku 1,5 roku o masie ciała 1,1 kg w kondycji ogólnej dobrej. Właściciel obserwował od ok. 2 tyg. posmutnienie zwierzęcia, mniejszą aktywność ruchową, a chwilami zwierzę sprawiało wrażenie, jakby traciło świadomość i wpatrywało się w jeden punkt, stany takie utrzymywały się od kilku do kilkunastu minut. W badaniu klinicznym nie stwierdzono w podstawowych parametrach odstępstw od normy (oddech, tętno, tem. wew. ciała). Objawy przypisano faktowi utraty 3 tyg. wcześniej 6-letniej fretki, z którą badany osobnik przebywał od 16 miesięcy. Po 4 dniach stan ogólny zwierzęcia znacznie się pogorszył, stany utraty świadomości pojawiały się znacznie częściej i trwały znacznie dłużej (nawet do 2–3 godzin). Zwierzę nie potrafiło omijać przedmiotów, co sugerowało okresową utratę wzroku. Wyniki wykonanych badań krwi (morfologia i panel biochemiczny) mieściły się w granicy wartości referencyjnych. W badaniu radiologicznym nie stwierdzono odstępstw od normy. Następnego dnia fretka padła.

Wykonano pełne badanie sekcyjne. Ocena makroskopowa mózgowia tchórzofretki wykazała obecność odgraniczzonego guza kształtu kulistego o wymiarach 10 mm x 9 mm barwy różowej, konsystencji miękkiej, który rosnąc, uciskał przylegającą korę czołowo-ciemieniową mózgu tworząc jamiste zagłębienie. Na przekroju nie wykazywał obecności torbieli.

Do badań histopatologicznych pobrano wycinek guza i mózgowie tchórzofretki. Po utrwaleniu w 10% zbuforowanym roztworze formaliny wykonano podłużne i poprzeczne skrawki półkulowe. Preparaty barwiono metodą H-E.

**Wyniki i omówienie:** W badaniu mikroskopowym stwierdzono, oprócz widocznego makroskopowo dużego guza, dodatkowo 3 niewielkie ogniska nowotworowe. Dwa występowały w postaci cienkiej pokrywy w sąsiedztwie opuszki węchowej i nad zakrętami mózgu płata ciemieniowego (4 x 2 mm i 3 mm x 1mm) jako tzw. *meningioma „en plaque”*. Natomiast trzecie ognisko umiejscowione było w błonie naczyniówkowej opony miękkiej splotu naczyniówkowego komory bocznej (4 x 3mm). Wszystkie cztery badane guzy w obrazie histopatologicznym okazały się oponiakami przejściowymi (*meningioma transitionale, mixtum*). Budowa histologiczna nowotworów przedstawiała typowe cebulowato-ostro zakończone formy składające się z różnej liczby komórek, w których widoczne były przekroje naczyń. Włókniste obszary oponiaków utworzone były z wydłużonych komórek tworzących sieciowe układy włóknkowe. Ponadto stwierdzono ogniskowy rozplam międzypęczkowego oligodendrogleju w istocie białej mózgu.

Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego u tchórzofretek stwierdzane są bardzo rzadko i w zestawieniach dotyczących występowania zmian nowotworowych u fretek nie przekraczają 0,26%. Wymieniane są tylko pojedyncze przypadki *astrocytoma*, granular cell tumor oraz *meningioma*. Opisany oponiak przejściowy u fretki według wiedzy autorów jest pierwszym tego typu przypadkiem u tchórzofretek.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Li X., Fox J.G., 1998. Neoplastic Disease, [in]: Biology and Diseases of the Ferret. 2nd ed. (Fox J.G. ed.), Williams & Wilkins, Baltimore, 405–447.
- [2] Li X., Fox J.G., Padrid P.A., 1998. Neoplastic diseases in ferrets: 574 cases (1968–1997). J. Am. Vet. Med. Assoc., 212: 1402–1406.



## ROLA TRENINGU MEDYCZNEGO W NOWOCZESNEJ TERAPII ZWIERZĄT BYTUJĄCYCH W OGRODACH ZOOLOGICZNYCH

### USE OF MEDICAL TRAINING IN MODERN THERAPY ANIMALS IN ZOOS

Paulina Plewako

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: paulinaplewako@gmail.com*

W dzisiejszych czasach coraz więcej Ogródów Zoologicznych oraz parków rozrywki korzysta z treningów medycznych. Ułatwiają one zarówno diagnostykę zwierząt, jak i ich ewentualne późniejsze leczenie. Istnieją trzy główne typy kontaktów ze zwierzętami: trening bezpośredni, gdzie nie ma barier pomiędzy zwierzęciem a trenerem (stosowany często w treningu ssaków morskich takich jak foki, uszatki, morsy), trening pośredni, z wystąpieniem barier chroniących trenera przed atakiem zwierząt, najczęściej w formie ścian treningowych (stosowany często u słońi, żyraf i nosorożców) oraz trzeci, ostatni wariant – brak treningów i bliskich kontaktów z bytującymi w zoo zwierzętami.

Dzięki wprowadzeniu treningów medycznych – nie tylko zmniejszono stres zwierząt bytujących w ogrodach, ale również ułatwiono pracę opiekunom i lekarzom weterynarii.

**Materiał i metody:** Trening medyczny polegający na pozytywnym wzmocnieniu został wprowadzony u słońi, żyraf i fok w Gdańskim Ogrodzie Zoologicznym, Warszawskim Miejskim Ogrodzie Zoologicznym oraz Płockim Ogrodzie Zoologicznym. Metody opierały się jedynie na pozytywnym wzmocnieniu, bez stosowania kar cielesnych. W celu ułatwienia sobie pracy do treningu żyraf zostały wprowadzone dwa długie kije zakończone gałką i klikier używany w treningu psów. U fok zastosowano specjalne znaczniki zwane „targetami” oraz gwizdki zapożyczone również z treningu psów. U słońi, dzięki wysoce ich rozwiniętemu intelektowi, nie trzeba było posiłkować się dodatkowymi przyrządami w celu wzmocnienia, wystarczyły jedynie komendy przekazywane przez opiekunów.

**Wyniki i omówienie:** Zastosowanie treningów z pozytywnym wzmocnieniem u wszystkich trzech gatunków zwierząt wpłynęło na poprawę kondycji, ograniczenie ich stresu, a nawet w niektórych sytuacjach wyeliminowanie lub znaczne zmniejszenie częstotliwości wystąpienia zachowań stereotypowych. Trenerzy z łatwością mogą pobrać krew od zwierząt do analiz, podać iniekcje domięśniowe oraz podskórne w razie potrzeby. Bez większych trudności można dokonać korekty kopyt słońi, racic żyraf, zaopatrzyć ewentualne rany, jak i przywołać dowolne zwierzę w dowolne miejsce wyznaczone przez trenera.

Istnieją różne sugestie co do prowadzenia treningów medycznych lub ich zaniechania. Istnieje ryzyko, iż zwierzęta, które podlegały treningom, nie będą nadawały się na wypuszczenie na wolność i powinno ograniczyć się kontakt z ludźmi do minimum. Z drugiej strony, u zwierząt, które z pewnością nigdy nie wrócą na wolność, treningi medyczne stanowią znaczne ułatwienie pracy z nimi dla opiekunów i personelu medycznego, a również zabezpieczają zwierzęta przed nudą, tak powszechną w ogrodach zoologicznych.



## WYKORZYSTANIE APITERAPII W LECZENIU I REHABILITACJI PTAKÓW DZIKICH RODZIMEJ AWIFAUNY

### INVOLVMENT OF APITHERAPY ON WILD BIRDS' TREATMENT AND REHABILITATION

Ewa Rumińska

Ośrodek Rehabilitacji Ptaków Dzikich w Bukwałdzie, Bukwałd 45a, 11-001 Dywity, e-mail: ewik53@wp.pl

Pacjenci z gromady ptaków trafiający do ośrodków rehabilitacji to przedstawiciele bardzo wielu gatunków, u których częściowo dane na temat farmakodynamiki leków syntetycznych są znikome lub żadne. Wrażliwość gatunkowa na chemioterapeutyki jest bardzo różna i przy tak małej ilości danych na ten temat – nie do przewidzenia. Stąd wykorzystanie preparatów pochodzenia naturalnego o złożonym składzie substancji czynnych, a dzięki temu niewykazujących tak daleko idących skutków ubocznych, ma swoje szerokie uzasadnienie. W przedstawionym doniesieniu główny nacisk zostanie położony na omówienie doświadczeń z pilotażowych badań klinicznych związanych z wykorzystaniem miodu w leczeniu starych, zainfekowanych ran tkanek miękkich u ptaków rodzimej awifauny.

**Materiał i metody:** Badania kliniczne prowadzono na 10 osobnikach bociana białego (*Ciconia ciconia*) wyselekcjonowanych pod względem wieku i rodzaju ran, z którymi trafiły do Ośrodka Rehabilitacji Ptaków Dzikich w Bukwałdzie w latach 2010–2011. Rany odznaczały się występowaniem zmian martwiczych, znacznymi uszkodzeniami skóry i mięśni oraz silnym zanieczyszczeniem. Do doświadczenia użyto dwóch odmian miodu o znanych najsilniejszych właściwościach inhibicyjnych w stosunku do drobnoustrojów powodujących schorzenia dermatologiczne: spadziowego i lipowego. Z zainfekowanych ran charakteryzujących się występowaniem zmian martwiczych pobierano wymazy do badań bakteriologicznych. Rany były zaopatrywane chirurgicznie lub leczone w sposób otwarty z użyciem miodu nierozcieńczonego (5 przypadków) oraz w proporcji 1:1 z wodą do iniekcji (5 przypadków). Obserwacje procesu rekonwalescencji prowadzono w porównaniu z kontrolną grupą 5 bocianów, u których pozostawiono rany do samowyleczenia.

**Wyniki i omówienie:** Proces gojenia ran leczonych przy użyciu miodu nierozcieńczonego przebiegał podobnie jak w przypadku miodu rozcieńczonego, aczkolwiek aspekty praktyczne przemawiają za używaniem roztworu, który znacznie mniej zabrudza pióra przy sączkowaniu. Oczyszczanie ran z resztek martwych tkanek przebiegało niezwykle szybko i skutecznie w porównaniu z grupą kontrolną. Do opisanego procesu ziarninowania i napływu komórek immunokompetentnych, które przy użyciu miodu jak wynika z literatury, ulegają pobudzeniu, potrzebna będzie analiza badań histopatologicznych i cytologicznych prowadzona obecnie. Ponieważ wyniki obserwacji klinicznych są bardzo obiecujące, metoda warta jest dalszych badań potwierdzających uzasadnienie jej używania w aviopatologii.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Kędzia B., Hołerna-Kędzia E., 2008. Miód. Skład i właściwości biologiczne. Przedsiębiorstwo Wydawnicze Rzeczpospolita.





## WYSTĘPOWANIE *RHODOCOCCUS EQUI* W POPULACJI DZIKÓW (*SUS SCROFA*) W POLSCE

### OCCURENCE OF *RHODOCOCCUS EQUI* IN WILD BOARS (*SUS SCROFA*) POPULATION IN POLAND

Magdalena Rzewuska<sup>1</sup>, Agata Cisek<sup>1</sup>, Magdalena Kizerwetter-Świda<sup>1</sup>, Dorota Chrobak<sup>1</sup>,  
Mirosław Welz<sup>3</sup>, Lucjan Witkowski<sup>2</sup>

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Nauk Przedklinicznych, <sup>2</sup>Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa  
<sup>3</sup>Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Krośnie, ul. Ks. Ściegiennego 6A, 38-400 Krosno,  
e-mail: rzewuskam@tlen.pl

*Rhodococcus equi* jest Gram-dodatnią, niewytwarzającą przetrwalników ziarniako-pałeczką. Bakteria ta jest oportunistycznym patogenem głównie zwierząt, u człowieka zakażenia powoduje sporadycznie. Wśród zwierząt udomowionych na zakażenie *R. equi* najbardziej wrażliwe są konie, u których wywołuje rodokozę, oraz świnie. Jak wynika z dotychczasowych badań, szczepy *R. equi* wywołujące zakażenia u poszczególnych gatunków gospodarzy różnią się profilem czynników zjadliwości. Rezerwuarem *R. equi* jest zanieczyszczona bakteriami gleba, a także różne gatunki zwierząt udomowionych, jak i wolno żyjących. Do zakażenia tym drobnoustrojem najczęściej dochodzi drogą aerogenną lub pokarmową.

**Cel pracy:** Ocena występowania *R. equi* u dzików wolno żyjących w Polsce oraz scharakteryzowanie wyizolowanych szczepów.

**Materiał i metody:** Materiałem badanym były węzły chłonne podżuchwowe pobrane od dzików odstrzelonych podczas polowań w różnych regionach Polski. W sumie przebadano próbki od 472 dzików. Bakterie były wykrywane w homogenizatach tkanek metodą hodowlaną. Do izolacji *R. equi* użyto podłoża wybiórczego (Meuller-Hinton agar z dodatkiem nowobiocyny, ceftazydymu, cykloheksamidu oraz teluryny potasu). Wybrane izolaty wstępnie zidentyfikowano w teście CAMP z beta-toksycznym szczepem *Staphylococcus aureus*. Następnie oznaczano ich właściwości biochemiczne testem API Coryne (bioMerieux, Francja). Technika PCR wykrywało cztery wybrane geny związane ze zjadliwością *R. equi*: *choE*, *traA*, *vapA* i *vapB* [1]. Dodatkowo zbadano pokrewieństwo genetyczne wyizolowanych szczepów metodą PFGE (elektroforeza w zmiennym polu elektrycznym).

**Wyniki i omówienie:** *R. equi* wykryto w 24 próbkach, co stanowi 5% wszystkich badanych zwierząt. Wszystkie izolaty cechowały się typowymi dla *R. equi* właściwościami fenotypowymi. W teście CAMP w przypadku wszystkich izolatów obserwowano synergistyczne działanie z hemolizyną gronkowcową. Badane izolaty wykazały stosunkowo małe zróżnicowanie aktywności biochemicznej. U wszystkich izolatów stwierdzono obecność genu oksydazy cholesterolowej (*choE*), enzymu charakterystycznego dla *R. equi*. Gen *traA*, odpowiadający za proces koniugacji i wymiany związanych ze zjadliwością plazmidów, wykryto u prawie 71% izolatów. W przypadku żadnego izolatu nie wykryto genu *vapA*, który występuje u większości końskich szczepów *R. equi*. Natomiast gen *vapB* stwierdzono u 71% izolatów. Obecność tego genu najczęściej odnotowywana jest w szczepach izolowanych od świń, a także w szczepach wywołujących zakażenia u ludzi. Brak jednocześnie wszystkich badanych genów plazmidowych stwierdzono u 6 izolatów, co wskazuje na ich prawdopodobną małą zjadliwość. Badanie PFGE wykazało bardzo duże zróżnicowanie genetyczne badanych izolatów, które przyporządkowano do 23 pulsotypów. Tylko w przypadku dwóch izolatów stwierdzono wysoki stopień pokrewieństwa. Uzyskane wyniki wskazują, że dziki w Polsce są potencjalnym rezerwuarem zjadliwych szczepów *R. equi*, z tym iż u zwierząt tych dominują szczepy typu „świńskiego”, a nie „końskiego”. Na uwagę zasługuje również fakt, że mięso dzików przeznaczone do konsumpcji, może być źródłem zakażenia *R. equi* u ludzi.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Ocampo-Sosa A.A., Lewis D.A., Navas J., Quigley F., Callejo R., Scotti M., Leadon D.P., Fogarty U., Vazquez-Boland J.A., 2007: Molecular Epidemiology of *Rhodococcus equi* Based on *traA*, *vapA*, and *vapB* Virulence Plasmid Markers. J. Infec. Dis., Vol., 196, 763–769.



## OCENA SYTUACJI EPIZOOTYCZNEJ CHOROBY ALEUCKIEJ NOREK W ŚWIETLE BADAŃ WŁASNYCH

### EPIZOOTIC SITUATION OF ALEUTIAN MINK DISEASE IN OUR STUDIES

**Magdalena Wawro, Jan Siemionek, Anna Szczerba-Turek, Paulina Plewko**

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii,  
ul. M. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: jan.siemionek@uwm.edu.pl*

Diagnostyka choroby aleuckiej norek opierała się początkowo tylko na wywiadzie epizootycznym i badaniu anatomopatologicznym ciężarnych norek. W latach 60. opracowano testy niespecyficzne, np. test jodowy, aglutynację, elektroforezę surowicy, test glutałdehydowy. Wykrywały one przeciwciała nieswoiste. Obecnie stosowany jest serologiczny test immunoelektroforezy przeciwpądowej (CIE) który wykrywa specyficzne przeciwciała. Obecność kompleksów immunologicznych w surowicy zakażonych norek można wykazać przez ich wizualizację w żelu agarowym. Test wykazuje 79% czułość i 99% specyficzność.

**Cel badań:** Określenie sytuacji epizootycznej choroby aleuckiej w wybranych fermach norek zgodnie z planem badań.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiła krew 693 norek (samic i samców), różnych odmian, w wieku 2–5 lat. Krew pobierano przez nacięcie pazurka norki do kapilary hematokrytowej. Badane norki pochodziły z trzech ferm: I – która wdrożyła program zwalczania i monitorowania choroby aleuckiej norek kilka lat temu, II – która wprowadziła taki program w czasie badań, III – nierealizującej żadnego programu zwalczania choroby aleuckiej norek. Kapilary hematokrytowe była poddawane obróbce w laboratorium\* w ciągu 24–48 godz. po pobraniu. Uzyskana z nich surowica była badana testem CIE zgodnie z metodyką [1].

**Wyniki i omówienie:** Wyniki badań pobranych surowic w trzech fermach norek były bardzo zróżnicowane. W fermie I badano ogółem 200 norek, w tym 100 samic i 100 samców. U żadnej z badanych norek nie wykazano obecności specyficznych przeciwciał. Norki z tej fermy były w uprzednich latach monitorowane serologicznie. Ponadto zakupione norki pochodziły tylko z ferm wolnych od seroreagentów (ferm duńskich). W fermie II, która wdrożyła program zwalczania i monitorowania choroby aleuckiej, w 1 roku zbadano 229 norek, w tym 138 samic i 91 samców. Wykazano obecność specyficznych przeciwciał u 104 samic (75,4%) oraz u 56 samców (61,5%). W fermie III, nierealizującej programu zwalczania choroby, zbadano ogółem 264 norki, w tym 219 samic i 45 samców. Obecność specyficznych przeciwciał wykazano odpowiednio u 201 (92%) i 44 (98%) norek. Badania wykazały, że sytuacja epizootyczna choroby aleuckiej norek w fermach krajowych nierealizujących programu zwalczania i monitorowania jest wysoce niezadowolająca, w odróżnieniu od fermy stosującej monitoring i właściwe zarządzanie stadem. W dwóch fermach norek w 1. roku badań monitoringowych stwierdzono liczne lub bardzo liczne występowanie przeciwciał swoistych dla wirusa choroby aleuckiej norek. Odsetek seroreagentów u samic i samców na fermie II wahał się w granicach od 61,5 do 75,4% na korzyść samic, a w fermie III miał zbliżoną wartość. Tak wysoka liczba seroreagentów w badanych fermach norek może wskazywać na zbyt rzadką lub niedokładną dezynfekcję klatek, sprzętu, terenu i pomieszczeń fermowych. Wyniki badań wykazały, że sytuacja epizootyczna choroby aleuckiej norek na badanych fermach była bardzo zróżnicowana, obok ferm wolnych istnieją fermy o wysokim odsetku zakażeń swoistych. Wskazane jest wdrożenie systematycznych badań monitorujących sytuację epizootyczną choroby aleuckiej norek w krajowych fermach. Fermi posiadające norki serologicznie dodatkowo komplikują sytuację epizootyczną krajowych ferm i mogą utrudnić dalszy rozwój tej dynamicznie rozwijającej się gałęzi produkcji.

#### **Piśmiennictwo:**

- [1] Cho H.J., Greenfield J., 1978. Eradication of Aleutian disease of mink by elimination positive counterimmunoelectrophoresis test reactors, J. Clin. Microbiol., 18–22.

\*W badaniach serologicznych korzystano z pomocy Laboratorium Plazmocytozy Norek w Goleniowie dr. wet. Waldemara Jana Turniaka.

*Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki, grant nr N N308 586240.*



**SEKCJA  
RYB**







## NAJGROŹNIEJSZE CHOROBY WIRUSOWE RYB SŁODKOWODNYCH

### MOST IMPORTANT DISEASES OF FRESHWATER FISH

**Marek Matras, Joanna Maj, Ewa Borzym, Magdalena Stachnik**

*Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Ryb, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: marek.matras@piwet.pulawy.pl*

Z danych dotyczących występowania oraz rozprzestrzeniania wirusowych chorób ryb w Europie w hodowli śródlądowej wynika, iż największe straty powodują zakażenie herpeswirusem koi (KHV), wirusowa posocznica krwotoczna (VHS), zakaźna martwica układu krwiotwórczego (IHN) [2].

W Polsce dominuje hodowla dwóch gatunków ryb, a mianowicie pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) oraz karpia (*Cyprinus carpio*). W hodowli pstrąga tęczowego od wielu lat wirus VHS określany jest jako najgroźniejszy patogen ryb łososiowatych. W ostatnich latach coraz częściej diagnozuje się w Polsce obecność wirusa IHN, który jest szczególnie niebezpieczny dla młodocianych form pstrągów. W przypadku karpia największe straty powoduje zakażenie herpeswirusem koi (KHV), który w naszym kraju po raz pierwszy wyizolowano i opisano przez Zakład Chorób Ryb Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w roku 2004 [1]. Cechą wspólną tych chorób jest duża patogenność dla ryb. Wystąpienie w obiekcie rybackim postaci klinicznej każdej z wyżej wymienionych chorób wiąże się bardzo często z ogromnymi śnięciami wrażliwych gatunków ryb. W związku z dużymi trudnościami w opanowaniu rozprzestrzeniania się VHS, IHN i KHV oraz znacznymi stratami produkcyjnymi choroby te zostały objęte obowiązkiem zwalczania w myśl Ustawy z 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczania chorób zakaźnych zwierząt [3].

Zakład Chorób Ryb PIWet-PIB od wielu lat prowadzi badania nad występowaniem i patogenizacją wirusowych chorób ryb oraz doskonaleniem metod ich diagnostyki. Stosowanie do badań diagnostycznych najczulszych technik (linie komórkowe, metody serologiczne, metody biologii molekularnej) stanowi jeden ze składników skutecznego mechanizmu zwalczania chorób ryb.

Ze względu na brak zadowalających wyników w zakresie szczepień skuteczna profilaktyka chorób wywoływanych przez VHS, IHN i KHV polega przede wszystkim na wprowadzaniu do obiektu materiału obrodowego i ikry wolnych od tych chorób oraz przeprowadzaniu okresowych badań laboratoryjnych. W dużej mierze skuteczna profilaktyka zależy również od prawidłowo przeprowadzonych zabiegów dezynfekcyjnych w gospodarstwie rybackim.

#### **Piśmiennictwo:**

- [1] Antychowicz J., Reichert M., Matras M., Bergmann S. M., Haenen O., 2005. Epidemiology, pathogenicity and molecular biology of koi herpesvirus isolated in Poland. Bull. Vet. Inst. Puławy, 49, 4, 367–373.
- [2] Olesen N. J., Nicolajsen N., 2011. Overview of the diseases situation and surveillance in Europe in 2010. 15 Annual Meeting of the National Reference Laboratories for Fish Diseases, National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Aarhus.
- [3] Ustawa z 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt. Dz. U. z 2004 r. nr 69, poz. 625, z późn. zm.



## WYSTĘPOWANIE I WRAŻLIWOŚĆ NA CHEMIOTERAPEUTYKI *MYCOBACTERIUM PEREGRINUM* IZOLOWANYCH OD RYB AKWARIOWYCH

### OCCURRENCE AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *MYCOBACTERIUM PEREGRINUM* IN ORNAMENTAL FISH

Leszek Guz<sup>1</sup>, Zbigniew Grądzki<sup>2</sup>, Monika Krajewska<sup>3</sup>, Marek Lipiec<sup>3</sup>, Anna Zabost<sup>4</sup>,  
Ewa Augustynowicz-Kopec<sup>4</sup>

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Zakład Chorób Ryb i Biologii,  
e-mail: leszek.guz@up.lublin.pl, <sup>2</sup>Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych,  
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin, e-mail: gradzki@up.lublin.pl,

<sup>3</sup>Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,  
Aleja Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: monika.krajewska@piwet.pulawy.pl,

<sup>4</sup>Zakład Mikrobiologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Płocka 26, 01-138 Warszawa

Mykobakteriozy wywoływane przez prątki niegruźlicze, określane jako MOTT (*Mycobacteria other than tuberculosis*) lub jako prątki atypowe, występują u wielu gatunków zwierząt. Powszechnie spotykane są one także w środowisku wodnym oraz w glebie. Dotychczas opisano około 125 różnych gatunków bakterii zaliczanych do prątków niegruźliczych, z których co najmniej kilkanaście może stanowić zagrożenie dla zdrowia człowieka. Zakażenia wywoływane przez bakterie z rodzaju *Mycobacterium* często opisywane są u ryb, tak konsumpcyjnych jak i ozdobnych. Do gatunków prątków, które dotychczas izolowano od ryb, należą: *Mycobacterium abscessus*, *M. aurum*, *M. avium* complex, *M. chelonae*, *M. chesopeaki*, *M. fortuitum*, *M. gordonae*, *M. haemophilum*, *M. insubricum*, *M. interjectum*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. montefiorensis*, *M. peregrinum*, *M. parafortuitum*, *M. poriferae*, *M. pseudoshottsii*, *M. scrofulaceum*, *M. shottsii*, *M. similiae*, *Mycobacterium stomatopiae* sp. nov., *M. szulgai* oraz *M. triplex*. Prawdopodobieństwo zakażenia tymi bakteriami w warunkach naturalnych dotyczy wszystkich gatunków ryb.

**Cel badań:** Izolacja oraz wstępna charakterystyka fenotypowa i genotypowa drobnoustrojów z gatunku *Mycobacterium peregrinum*, pochodzących z ogniska zakażenia stwierdzonego u rybek akwariowych w hodowli amatorskiej.

**Materiał i metody:** Do badań użyto 12 ryb akwariowych, należących do gatunków *Poecilia sphenops*, *Poecilia reticulata*, *Xiphophorus hellerii*, *Danio rerio* oraz *Pangasius hypophthalmus*. Wstępne badanie kliniczne ryb nie wykazało jakichkolwiek zaburzeń w stanie zdrowia. Wskazaniem do przeprowadzenia dalszych badań laboratoryjnych było stwierdzenie obecności bakterii z rodzaju *Mycobacterium* w wodzie pochodzącej z akwarium, w którym przebywały ryby. Materiał do badań bakteriologicznych stanowiły wycinki narządów wewnętrznych, nerki główowej i wątroby oraz mięśni ryb. Drobnoustroje namnażano na dwóch rodzajach pożywek, podłożu Petraganiano (PIWet/PIB, Puławy) oraz Stonenbrincka (PIWet/PIB, Puławy) według ogólnie przyjętych zasad. Wyrosłe bakterie barwiono metodą Ziehl-Nelsena, a następnie oznaczano ich przynależność gatunkową przy użyciu testu Geno Type *Mycobacterium* CM (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Germany). Wrażliwość badanych izolatów ( $n = 12$ ) na wybrane chemioterapeutyki określono w odniesieniu do streptomycyny ( $4,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), izoniazidu ( $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ ), ofloksacyny ( $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ ), etionamidu ( $40,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), etambutolu ( $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), kapreomycyny ( $40,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), rifampicyny ( $40,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), amikacyny ( $0,016 \text{ mg L}^{-1}$ ), biseptolu ( $16,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), klofazyminy ( $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), ryfabutyny ( $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ ) oraz preparatu Davercin ( $12,0 \text{ mg L}^{-1}$ ).

**Wyniki i omówienie:** Badaniem anatomopatologicznym w narządach wewnętrznych oraz w mięśniach ryb nie wykazano obecności ognisk gruźliczych. Badaniem hodowlanym w narządach wszystkich ryb stwierdzono obecność bakterii z rodzaju *Mycobacterium*, które przy użyciu testu Geno Type *Mycobacterium* CM zidentyfikowano jako należące do gatunku *Mycobacterium peregrinum*. Spośród 12 ocenianych chemioterapeutyków 5 wykazywało aktywność w stosunku do badanych izolatów: ofloksacyna (aktywna w stosunku do 100% badanych szczepów), kapreomycyna (100%), amikacyna (100%), etionamid (33,3%) i ryfabutyna (33,3%). Z uwagi na zagrożenie dla zdrowia człowieka oraz bezobjawowy przebieg infekcji osoby z obniżoną odpornością powinny zachowywać ostrożność w przypadku kontaktu z prątkami z grupy MOTT.



## NOWO POJAWIAJĄCE SIĘ BAKTERIE U RYB I ICH POTENCJALNE ZNACZENIE W PATOLOGII TYCH ZWIERZĄT

### EMERGENCE OF NEW BACTERIA IN FISH AND THEIR POTENTIAL IMPORTANCE IN THESE ANIMALS PATHOLOGY

Alicja Kozińska, Agnieszka Pękala, Ewa Paździor

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Ryb, Al. Partyzantów 57,  
24-100 Puławy, e-mail: koala@piwet.pulawy.pl

W ostatnich latach, oprócz bakterii dobrze poznanych jako chorobotwórcze dla ryb, coraz częściej izolowane są mikroorganizmy bardzo rzadko lub w ogóle nie opisywane jako patogeny ryb. Niektóre z tych bakterii stanowią prawdopodobnie florę saprofityczną, towarzyszącą organizmom chorobotwórczym. Zdarzały się jednak przypadki, kiedy bakterie z rodzajów *Acinetobacter*, *Pantoea*, *Enterobacter* czy też *Chryseobacterium* stanowiły dominującą florę w zmienionych chorobowo tkankach i narządach ryb (obserwacje własne), co wskazuje, że mogą one w warunkach sprzyjających stanowić zagrożenie dla zdrowia tych zwierząt.

**Cel pracy:** Określenie właściwości patogennych *Acinetobacter lwoffii* i *Chryseobacterium indologenes* poprzez eksperymentalne zakażanie ryb.

**Materiał i metody:** Oba szczepy bakterii użyte do badań zostały wyizolowane od pstrągów tęczowych. Hodowle poszczególnych szczepów w bulionie tryptozowo-sojowym (TSB) rozcieńczano w jałowym PBS do uzyskania zawiesiny o stężeniu  $10^7$  komórek/1 ml. Pstrągi tęczowe o wadze jednostkowej ok. 50 g podzielono na 4 grupy doświadczalne i 1 kontrolną, po 10 szt. każda. Ryby z poszczególnych grup zakażano oddzielnie szczepem *A. lwoffii* i *Ch. indologenes* przez wstrzyknięcie 0,2 ml zawiesiny podskórnie (odpowiednio grupy I i III) oraz 0,5 ml do jamy ciała (odpowiednio grupy II i IV) i umieszczono w oddzielnych akwariach, w wodzie o temp.  $12 \pm 2^\circ\text{C}$ . Obserwację prowadzono przez 4 tygodnie.

**Wyniki i omówienie:** U poszczególnych ryb zakażonych podskórnie *A. lwoffii* obserwowano odpadanie łusek oraz punkcikowate wybroczyny na skórze. Pierwszymi objawami chorobowymi u ryb zakażonych dootrzewnowo tym samym szczepem było pociemnienie skóry i gromadzenie się w rogu akwarium. Po około 2 tygodniach stwierdzono wytrzeszcz gałek ocznych. Podobne objawy występowały u ryb naturalnie zakażonych *A. lwoffii* (obserwacje własne). W ciągu całego okresu obserwacji – w grupie I usnęła jedna ryba (10%), a w grupie II dwie. Dotychczas opisano 3 przypadki związane z infekcją *Acinetobacter* spp. u ryb. Jeden dotyczył łososia atlantyckiego [2] dwa inne karpia [1]. U ryb zakażonych podskórnie *Ch. indologenes* pojawiały się przebarwienia skóry w miejscu wkłucia, następnie przekrwienie skóry i niewielkie ubytki. Ryby zakażone tym szczepem dootrzewnowo wykazywały podobne objawy jak ryby z grupy II, a ponadto obserwowano obrzęk i zwiększone wydzielanie śluzu w skrzelach. W terenowych przypadkach związanych z zakażeniem *Ch. indologenes* ryby najczęściej wykazywały wytrzeszcz gałek ocznych i/lub zmiany w skrzelach. W ciągu całego okresu obserwacji nie stwierdzono śnięć w grupie III, natomiast w grupie IV usnęło 30% ryb. Badania bakteriologiczne zmienionych tkanek wykazały obfity wzrost bakterii użytych do zakażeń. Dotychczas brak jest dostępnych danych o zakażeniach ryb bakterią *Ch. indologenes*. Wyniki badań wskazują, że bakterie uważane powszechnie jako saprofity mogą w sprzyjających warunkach przezwyciężyć bariery immunologiczne ryb, wywołując u nich zmiany patologiczne.

#### Piśmiennictwo.

- [1] Pękala A., 2007. Nowe zagrożenia infekcji bakteryjnych karpia, [w:] Ochrona zdrowia w gospodarce rybackiej. Pr. zbior. pod red. J. Żelaznego, PIWet-PIB Puławy, 59–64.
- [2] Roald S.O., Håstein T., 1980. Infection with an acinetobacter-like bacterium in *Atlantic salmon* (*Salmo salar*) broodfish, [w:] Ahne W. (ed.), Fish Diseases, third Copraq Session, Springer-Verlag, Berlin, 154–156.



## PSTRĄG TĘCZOWY JAKO POTENCJALNY NOSICIEL WIRUSA ZAKAŻNEJ ANEMII ŁOSOSI

### RAINBOW TROUT AS A CARRIER OF INFECTIOUS SALMON ANAEMIA VIRUS

Joanna Maj, Ewa Borzym, Agnieszka Sandomierska, Marek Matras

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Zakład Chorób Ryb,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: joanna.maj@piwet.pulawy.pl

Nazwa „pstrąg tęczowy” obejmuje kilka gatunków pstrągów żyjących w Ameryce Północnej i odznaczających się m.in. czerwono-purpurową pręgą biegnącą przez środek ciała, po której można odróżnić dorosłego pstrąga tęczowego od pstrąga potokowego czy źródlanego. Pstrągi tęczowe uważane są za jedno z najważniejszych ryb, ze względu na walory żywieniowe, wędkarskie oraz ich zwyczaje [2].

Według Dyrektywy Rady 2006/88/WE pstrąg tęczowy jest gatunkiem podatnym m.in. na zakaźną anemię łososi (ISA). Jednostka ta jak dotąd nie występuje w naszym kraju, jednakże dostosowując prawo polskie do unijnego, podlega obowiązkowi zwalczania.

Chorobę tą wywołuje wirus należący do rodziny *Orthomyxoviridae*, rodzaju *Isavirus*. Najbardziej wrażliwą rybą jest łosoś atlantycki, lecz zagrożonymi gatunkami są także pstrąg tęczowy i troć wędrowna.

**Cel pracy:** Eksperymentalne zakażenie pstrągów tęczowych, izolacja wirusa zakaźnej anemii łososi ISA we wrażliwej linii komórkowej ASK (*Atlantic Salmon Kidney*) oraz w narządach wewnętrznych potencjalnych nosicieli wirusa – pstrągów tęczowych, a także identyfikacja patogenu przy użyciu molekularnej metody RT-PCR oraz metody serologicznej – immunofluorescencji, porównanie czułości użytych metod.

**Materiał i metody:** Materiałem do badań molekularnych i serologicznych były narządy wewnętrzne (nerka, wątroba, serce, śledziona) pstrągów tęczowych, eksperymentalnie zakażonych referencyjnym izolatem wirusa ISA - ISA Glesvaer otrzymanym z laboratorium EURL, Aarhus, Dania.

**Wyniki i omówienie:** Zakażone wirusem ISA pstrągi tęczowe nie wykazywały żadnych objawów klinicznych, nie wystąpiły śnięcia. Wszystkie badane metodą RT-PCR próbki były dodatnie i we wszystkich badanych oddzielnie narządach stwierdzono obecność kwasu nukleinowego wirusa ISA. Do wykrycia i identyfikacji wirusa wykorzystano parę specyficznych starterów opisanych przez Mjaaland'a i wsp. 5'-GGC-TAT-CTA-CCA-TGA-ACG-AAT-C-3' oraz 5'-GCC-AAG-TGT-AAG-TAG-CAC-TCC-3' [3]. Na zakażonej hodowli komórkowej ASK nie zaobserwowano efektu cytopatycznego wywołanego przez wirusa, natomiast po przeprowadzeniu izolacji i identyfikacji metodą RT-PCR stwierdzono jego obecność. Metoda immunofluorescencji dała wynik dodatni w postaci świecenia wzbudzonego fluorochromu, będącego dowodem na obecność antygeny, jednakże nie we wszystkich badanych próbkach. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż najbardziej czułą metodą identyfikacji wirusa ISA jest metoda molekularna RT-PCR, która pozwala wykryć obecność patogenu, nawet gdy nie wykazuje on żadnego efektu cytopatycznego na hodowli komórkowej, a także wtedy, gdy nie wykazuje żadnych objawów klinicznych. Badania te dowiodły, że pstrąg tęczowy jest nosicielem wirusa zakaźnej anemii łososi i źródłem jego namnażania oraz rozprzestrzeniania się, przy czym choroba ta u pstrągów może przebiegać bezobjawowo. Nie można też wykluczyć pojawienia się ostrej postaci choroby, która może doprowadzić do śnięć nawet od kilku do 100%, dlatego ważne jest opracowanie metod diagnostycznych i kontrolowanie stanu zdrowia ryb w celu zapobiegania skutkom i rozwinięciu się choroby.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Dyrektywa Rady 2006/88/WE z dn. 24 października 2006 r. w sprawie wymogów w zakresie zdrowia zwierząt akwakultury i produktów akwakultury oraz zapobiegania niektórym chorobom zwierząt wodnych i zwalczania tych chorób.
- [2] Michalik J., Reiser F., 1990. Nasze ryby, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 29–31.
- [3] Mjaaland S., Rimstad E., Cunningham C.O., 2002. Molecular diagnosis of infectious salmon anaemia, [w:] *Molecular Diagnosis of Salmonid Diseases*, Dordrecht, The Netherland, 1–22.





## WPŁYW KOMERCYJNYCH NANOKOLOIDÓW METALI SZLACHETNYCH NA AKTYWNOŚĆ PROLIFERACYJNĄ LIMFOCYTÓW PSTRĄGA TĘCZOWEGO

### IN VITRO EFFECT OF COMMERCIALY AVAILABLE NOBLE METAL NANOCOLLOIDS ON THE PROLIFERATIVE RESPONSE OF RAINBOW TROUT LYMPHOCYTES

Joanna Małaczewska, Roman Wójcik, Andrzej Krzysztof Siwicki

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: j.malaczewska7@wp.pl

Wraz z dynamicznym rozwojem nanotechnologii i coraz większą skalą stosowania jej produktów gwałtownie wzrasta ryzyko zanieczyszczenia nimi środowiska i ekspozycji organizmów, zwłaszcza wodnych, na działanie nanocząstek. Znana jest wysoka toksyczność jonów metali dla organizmu ryb, wynikająca z ich wpływu na skrzela i zaburzenia osmoregulacji, skutkującego zapaścią sercowo-naczyniową. Niewiele wiadomo natomiast o toksyczności nanoform metali. Podobnie jak jony niekorzystnie działają na skrzela i gospodarkę jonową, niewykluczona jest też jednak alimentarna droga ekspozycji zwierząt. U pstrąga tęczowego obserwowano indukowane stresem picie wody, związane również z naturalną hierarchią socjalną u tego gatunku, co może skutkować dostawaniem się nanometali do krwi i ich dystrybucją do różnych narządów wewnętrznych. Jak dotąd brak jednak danych nt. wpływu nanocząstek na komórki immunokompetentne ryb. Z tego względu podjęto badania mające na celu określenie wpływu komercyjnie dostępnych nanokolloidów srebra, złota i miedzi na żywotność oraz aktywność proliferacyjną limfocytów pstrąga tęczowego.

**Materiał i metody:** Badania przeprowadzono na 25 pstrągach tęczowych. Od zwierząt poddanych narkozie immersyjnej z użyciem preparatu Propiscin (IRS Żabieniec, Polska) pobierano krew z żyły ogonowej do skrwawienia, a następnie, sekcyjnie, śledziony. Komórki do badań izolowano z krwi i narządów przez wirowanie w gradiencie Histopaque-1077. Po oddzieleniu komórek adherentnych limfocyty hodowano w podłożu RPMI-1640 przez 72 godziny, w obecności wzrastających stężeń (0,15–10 ppm Ag; 0,9–10 ppm Au i Cu) nanokolloidów srebra, złota i miedzi, zawierających nanocząstki metaliczne 4N, o wyjściowym stężeniu 50 ppm (Nano-Tech, Polska). Po tym czasie oceniano żywotność komórek i ich odpowiedź proliferacyjną po stymulacji mitogenami (ConA i LPS) w spektrofotometrycznym teście redukcji MTT.

**Wyniki i omówienie:** Żadne z testowanych stężeń złota i miedzi nie wpływało na żywotność komórek, obserwowano jednak niekorzystny wpływ wyższych stężeń tych metali na proliferację komórek. Kolloid złota w stężeniach 2,5–10 ppm obniżał proliferację limfocytów śledzionowych, niezależnie od użytego mitogenu, nieco mniej wrażliwe okazały się limfocyty izolowane z krwi (5–10 ppm). Kolloid miedzi cechowała niższa toksyczność: stężenia 3,75–10 ppm obniżały proliferację limfocytów śledzionowych pod wpływem ConA, nie obserwowano natomiast niekorzystnego działania nanocząstek miedzi w pozostałych układach. Najwyższą toksyczność stwierdzono w przypadku kolloidu srebra. W stężeniach 1,25–10 ppm nanosrebro istotnie obniżało żywotność limfocytów śledzionowych, mniejszą cytotoksyczność wykazując w stosunku do komórek izolowanych z krwi (5–10 ppm). Odwrotną zależność obserwowano we wpływie srebra na proliferację komórek. Bardziej wrażliwe okazały się limfocyty izolowane z krwi – spadek proliferacji pod wpływem ConA przy stężeniach 0,625–10 ppm (śledzionowe 2,5–10 ppm). Niskie stężenia srebra natomiast stymulowały proliferację limfocytów śledzionowych (0,15–0,3 ppm). Niekorzystny wpływ nanosrebra na proliferację komórek B obserwowano tylko przy jego najwyższym stężeniu (10 ppm). Nanosrebro jest najczęściej stosowanym nanometalem, ze względu na swoje silne działanie dezynfekujące. Znajduje zastosowanie m.in. w oczyszczaniu i uzdatnianiu wody, co w świetle uzyskanych wyników może budzić uzasadnione obawy, dotyczące jego wpływu na układ immunologiczny ryb.

#### Piśmiennictwo:

- [1] B.J. Shaw, Handy R.D., 2011. Physiological effects of nanoparticles on fish: A comparison of nanometals versus ions, *Environment International*, 37, 1083–1097.





## **SHEWANELLA PUTREFACIENS JAKO NOWY BAKTERYJNY CZYNNIK ETIOLOGICZNY WYWOŁUJĄCY ZABURZENIA ZDROWOTNE RYB HODOWLANYCH W POLSCE**

### **SHEWANELLA PUTREFACIENS AS A NEW BACTERIAL AETIOLOGICAL AGENT CAUSING DISORDERS IN FISH CULTURED IN POLAND**

**Agnieszka Pękala, Alicja Kozińska, Ewa Paździor**

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Ryb,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: A.Pekala@piwet.pulawy.pl

*Shewanella putrefaciens* jest Gram-ujemną halofilną bakterią należącą do rodziny *Alteromonadaceae*, która stanowi jeden z najważniejszych składników mikroflory gnilnej produktów rybich oraz mięsa wołowego i drobiowego. Rola tej bakterii w patologii chorób ryb była do tej pory słabo poznana i ograniczała się jedynie do ryb morskich. Od około dziesięciu lat obserwowane są zaburzenia zdrowotne oraz śnięcia ryb słodkowodnych w Polsce, które łączą się z izolacją *S. putrefaciens* z narządów wewnętrznych ryb wykazujących objawy kliniczne.

**Cel badań:** Biochemiczna charakterystyka zgromadzonych izolatów *S. putrefaciens* oraz określenie ich rzeczywistej chorobotwórczości dla karpia i pstrągów tęczowych poprzez eksperymentalne zakażenia tych gatunków.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 59 zgromadzonych izolatów *S. putrefaciens*, które charakteryzowano na podstawie ich właściwości biochemicznych (API 20E, bioMerieux), jak również zdolności wzrostu w obecności NaCl [1]. Wrażliwość *S. putrefaciens* na wybrane chemioterapeutyki (oksytetracyklina, flumechina, enrofloksacyna, sulfonamidy potencjonowane trimetoprimem, cefalotynę) określono metodą dyfuzyjno-krażkową. Karpie i pstrągi pochodzące z obiektów wolnych od chorób zakaźnych użyto do zakażeń eksperymentalnych. Wybrano po dwa izolaty *S. putrefaciens* izolowane od karpia i pstrągów. Ryby zakażone dootrzewnowo przetrzymywano w czasie eksperymentu w przepływowych akwariach, prowadząc ich codzienną obserwację. Po wystąpieniu objawów klinicznych pobierano od ryb materiał do badań bakteriologicznych.

**Wyniki i omówienie:** Badania właściwości biochemicznych zgromadzonych izolatów *S. putrefaciens* wykazały niewielką zmienność tych bakterii w obrębie gatunku, która ograniczała się do reakcji w testach na dekarboksylazę ornityny, wykorzystanie cytrynianu oraz hydrolizę żelatyny. Ponadto zaobserwowano, że *S. putrefaciens* do wzrostu nie wymaga obecności NaCl, co świadczy o zdolnościach adaptacyjnych tej bakterii do warunków środowiskowych. Wszystkie izolaty były odporne na działanie oksytetracykliny, flumechiny oraz enrofloksacyny, wykazywały natomiast wrażliwość na sulfonamidy potencjonowane trimetoprimem oraz cefalotynę. Po eksperymentalnym dootrzewnowym zakażeniu karpia i pstrągów wybranymi izolatami *S. putrefaciens* obserwowano rozwój objawów klinicznych u obydwu gatunków ryb. Najbardziej charakterystycznymi, obok objawów niespecyficznych, były obecność ubytków, zmian martwiczych lub owrzodzeń na skórze. W badaniu anatomopatologicznym stwierdzano zwiększoną wilgotność narządów wewnętrznych (wątroba, nerki), powiększenie śledziony oraz obecność wybroczyn w wątrobie, pęcherzu pławnym, otrzewnej ściennej, tłuszczu okołonarządowym. Śnięcia zakażonych eksperymentalnie ryb rozpoczynały się pomiędzy 3. a 5. dniem po zakażeniu (zależnie od szczepu użytego do zakażenia) i wynosiły średnio od 40 do 80% obsady. Z narządów wewnętrznych ryb wykazujących objawy kliniczne oraz ze zmian skórnych izolowano *S. putrefaciens*.

#### **Piśmiennictwo:**

- [1] Kozińska A., Pękala A., 2004. First isolation of *Shewanella putrefaciens* from freshwater fish-a potential new pathogen of the fish. Bull. Eur. Assn. Fish Pat., 24, 199–203.



## WYSTĘPOWANIE ZAKAŻNEGO ZESPOŁU OWRZODZENIA (EUS) U RYB AKWARIOWYCH W POLSCE

## THE OCCURRENCE OF EPIZOOTIC ULCERATIVE SYNDROME (EUS) IN ORNAMENTAL FISH IN POLAND

Agnieszka Pękala<sup>1</sup>, Ewa Paździor<sup>1</sup>, Maciej Dragan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Ryb,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: A.Pekala@piwet.pulawy.pl

<sup>2</sup>Klinika Weterynaryjna „Orka”, ul. Mazańcowicka 36, 43-502 Czechowice-Dziedzice

Zakaźny zespół owrzodzenia (EUS – epizootic ulcerative syndrome) wywoływany przez grzyba *Aphanomyces invadans* jest jednostką chorobową, która według dyrektywy Rady 2006/88/WE należy do siedmiu najgroźniejszych chorób ryb i zarazem jest jedną z dwóch tzw. chorób egzotycznych, które nie występują na terenie UE. EUS może stanowić realne zagrożenie dla zdrowia ryb hodowanych w Europie, gdyż na infekcję *A. invadans* wrażliwe są niektóre gatunki o dużym znaczeniu ekonomicznym. Problem introdukcji tej jednostki chorobowej jest bardzo realny, z uwagi na wzmożony obrót ryb tropikalnych, szczególnie sprowadzanych z ich naturalnego środowiska. Pierwsze przypadki diagnozowania *A. invadans* u ryb tropikalnych miały już miejsce w Austrii.

**Cel badań:** Ocena występowania grzyba *A. invadans* wśród ryb tropikalnych sprowadzanych do naszego kraju z różnych części świata, jak i pochodzących z polskich hodowli. Diagnostyka EUS opierała się na próbie izolacji grzyba oraz jego identyfikacji techniką PCR.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiły wycinki mięśni, skóry oraz narządów wewnętrznych różnych gatunków ryb akwariowych, u których w badaniu klinicznym obserwowano zmiany na skórze w postaci owrzodzeń. Izolację grzyba przeprowadzano, umieszczając fragmenty tkanek na pożywkę GP oraz Cytophaga agar. Inkubację przeprowadzano w temp. 27°C ± 2°C, codziennie obserwując potencjalny wzrost patogenu. Wyrosłe strzępki poddawane były badaniu PCR z zastosowaniem specyficznych par starterów opisanych przez Vandersea [2]. Metody tej użyto również do badań bezpośrednich materiału zabezpieczonego w 70% etanolu.

**Wyniki i omówienie:** Ogółem przebadano 450 próbek pochodzących od różnych gatunków ryb akwariowych z polskich hodowli, jak również z eksportu z Izraela, Ameryki Południowej, Afryki oraz Indonezji. Po inkubacji fragmentów tkanek i/lub narządów wewnętrznych na podłożu GP nie zaobserwowano wzrostu grzybni morfologicznie podobnej do *Aphanomyces invadans*. Wyniki tych badań metodą PCR były również ujemne. Badania techniką PCR fragmentów skóry, mięśni i narządów wewnętrznych zabezpieczonych w 70% etanolu dały również wyniki ujemne. Uzyskane wyniki wskazują na konieczność przeprowadzania dalszych badań ryb akwariowych, szczególnie tych sprowadzanych do Polski. Ujemne wyniki izolacji i identyfikacji grzyba *A. invadans* nie świadczą wcale o braku tego patogenu na terenie naszego kraju, ponieważ liczba przebadanych ryb stanowi zaledwie niewielki procent wszystkich, sprowadzanych do Polski. Sytuacja ta wynika z trudności w pozyskaniu materiału do badań, gdyż ryby ozdobne wyłączone są z uregulowań prawnych wynikających z postanowień dyrektywy Rady 2006/88/WE traktującej o ochronie zdrowia zwierząt akwakultury.

### Piśmiennictwo:

- [1] Dyrektywa Rady 2006/88/WE z dnia 24 października 2006 r. w sprawie wymogów w zakresie zdrowia zwierząt akwakultury i produktów akwakultury oraz zapobiegania niektórym chorobom zwierząt wodnych i zwalczania tych chorób. (Dz. U. L 328/44 z 24. 11. 2006).
- [2] Vandersea M.W., Litaker R.W., Yonish B., Sosa E., Landsberg J.H., Pullinger Ch., Moon-Butzin P., Green J., Morris J.A., Kator H., Noga E.J., Tester P.A., 2006. Molecular assays for detecting *Aphanomyces invadans* in ulcerative mycotic fish lesions. Applied and Environmental Microbiology, 72, 1551–1557.



## WYSTĘPOWANIE I WPŁYW CHOROBY NOWOTWOROWEJ NA STAN POPULACJI MAŁŻY Z GATUNKU *MACOMA BALTHICA* W BAŁTYKU POŁUDNIOWYM

### OCCURRENCE AND IMPACT OF NEOPLASTIC DISEASE ON BIVALVE *MACOMA BALTHICA* (L.) POPULATION FROM SOUTHERN BALTIC SEA

Magdalena Stachnik<sup>1,2</sup>, Maciej Wołowicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Ryb, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: magdalena.stachnik@piwet.pulawy.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Gdański, Instytut Oceanografii, Zakład Funkcjonowania Ekosystemów Morskich, Al. Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

Przypadki choroby nowotworowej typu neoplazja stwierdzone są zarówno u małży wykorzystywanych w akwakulturze (np. u rodziny *Ostreidae* i *Mytilidae*), jak i w dzikich populacjach (m.in. u *Tellinidae*), zamieszkujących często regiony intensywnej działalności człowieka. Chociaż etiologia choroby nowotworowej nie jest ściśle określona, wielu autorów sugeruje związek przyczynowo-skutkowy między neoplazją a warunkami środowiskowymi i zanieczyszczeniem [1, 4]. Zmiany nowotworowe typu neoplazja w populacji *Macoma balthica* (L.) z południowego Bałtyku obserwowano od 1996 r. [3]. Wysoki wskaźnik występowania nowotworów u małży sprawia, że rogowiec jest szczególnie interesujący jako organizm modelowy do badania mechanizmów rozwoju choroby i poznania jej środowiskowego znaczenia.

**Materiał i metody:** W latach 2005–2007 prowadzono badania nad występowaniem neoplazji u *M. balthica* z Zatoki Gdańskiej. Materiał zbierano w odstępach dwumiesięcznych, z 5 stacji badawczych reprezentujących różne warunki środowiskowe oraz stopień zanieczyszczenia. Diagnostykę nowotworu prowadzono przy użyciu mikroskopu świetlnego, po wykonaniu preparatów metodą air-dryinig [2].

**Wyniki i omówienie:** Częstotliwość występowania nowotworu wynosiła 0–60% i zależała od rozmieszczenia stacji oraz pory roku. Wyższą zachorowalność notowano latem na stacjach głębokowodnych. Jedyną stacją, gdzie nie obserwowano neoplazji, był Zalew Pucki. Zróżnicowane warunki środowiskowe, m.in. głębokość, poziom zanieczyszczenia, dostępność bazy pokarmowej czy też okresowe pogorszenie warunków tlenowych, są powodem przestrzennego zróżnicowania zjawiska neoplazji. Sezonowe fluktuacje zachorowania skutkowały niekorzystnymi zmianami w kondycji organizmów i ich aktywności metabolicznej. Odnotowano wpływ nowotworu na procesy respiracji *M. balthica* oraz zaburzenia w rozwoju gonad. Obecność nowotworu u rogowca bałtyckiego jest znaczącym problemem środowiskowym dla ekosystemu Zatoki Gdańskiej, ze względu na fakt, iż wiąże się z osłabieniem organizmów i obniża ich aktywność metaboliczną, a co za tym idzie, wpływa niekorzystnie na stan populacji tego gatunku.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Barber B.J., 2004. Neoplastic diseases of commercially important marine bivalves, *Aquatic Living Resources* 17, 449–466.
- [2] Thiriot-Quievreux C., Ayraud N., 1982. Les karyotypes de quelques especes de bivalves et de gastropodes marins. *Marine Biology*, 70, 165–172.
- [3] Thiriot-Quievreux C., Wołowicz M., 2001. Chromosomal study of the prevalence of a gill neoplasia in *Macoma balthica* from the Bay of Gdansk. *Ophelia*, 54 (1), 75–81.
- [4] Wołowicz M., Smolarz K., Sokołowski A., 2005. Neoplasia in estuarine bivalves: effect of feeding behaviour and pollution in the Gulf of Gdańsk (Baltic Sea, Poland), [in:] *The Comparative Roles of Suspension-Feeders in Ecosystems*, 165–182.



## ZMIANY ULTRASTRUKTURALNE HEPATOCYTÓW W CHOWIE PSTRĄGÓW TĘCZOWYCH (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) W SYSTEMIE RECYRKULACJI WODY

### ULTRASTRUCTURAL LESIONS OF HEPATOCYTES IN THE TROUTS (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) BREEDING IN THE RECIRCULATION SYSTEM

Józef Szarek<sup>1</sup>, Beata Szynaka<sup>6</sup>, Izabella Babińska<sup>1</sup>, Anna Andrzejewska<sup>6</sup>, Krystyna Skibniewska<sup>3</sup>,  
Janusz Guziur<sup>4</sup>, Emilia Strzyżewska<sup>1</sup>, Stefan Dobosz<sup>5</sup>, Krzysztof Siwicki<sup>2</sup>, Magdalena Szweda<sup>1</sup>,  
Janusz Zakrzewski<sup>3</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Patofizjologii, Weterynarii Sądowej i Administracji, <sup>2</sup>Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej ul. Oczapowskiego 13, 10-719 Olsztyn, e-mail: szarek@uwm.edu.pl; <sup>3</sup>Wydział Nauk Technicznych, Katedra Podstaw Bezpieczeństwa, ul. Okrzei 1a, 10-266 Olsztyn, <sup>4</sup>Wydział Ochrony Środowiska i Rybactwa, Katedra Biologii i Hodowli Ryb, ul. Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, <sup>5</sup>Instytut Rybactwa Śródlądowego, Zakład Hodowli Ryb Łososiowatych, Rutki <sup>6</sup>Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Zakład Patomorfologii Lekarskiej, ul. J. Waszyngtona 13, 15-269 Białystok;

Coraz powszechniej w chowie pstrągów tęczowych stosowane są technologie uzdatniania wody [1, 3], w tym także jej pełna recyrkulacja. Niestety, te nowoczesne rozwiązania technologiczne nie posiadają jeszcze pełnej bazy naukowej umożliwiającej całkowitą akceptację przez bioetyków i zwolenników żywności ekologicznej. Efektem podążania w kierunku zmian jest m.in. Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 710/2009 ustanawiające szczegółowe zasady dotyczące ekologicznej produkcji w sektorze akwakultury. Bazując na wymienionym akcie normatywnym, podjęto badania mające m.in. na celu wskazanie, jakie jest środowisko pstrągów w systemie pełnej recyrkulacji (RAS) oraz jaki jest końcowy produkt tego chowu. Prezentowane badania stanowią fragment zmierzający w kierunku rozpoznania wpływu wymienionego sposobu chowu na ultrastrukturę hepatocytów pstrągów.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowiło 240 pstrągów tęczowych, z trzech gospodarstw rybackich, chowanych w systemie recyrkulacji wody, o masie ciała 350–500 g (grupa 1) i 501–800 g (grupa 2) – n = 20. Wątrobę utrwalano w 2,5% paraformaldehydzie i 2% aldehydzie glutarowym w buforze fosforanowym o pH 7,4. Wycinki zatapiało w Eponie. Skrawki półcienkie barwiono według Levisa i Knighta. Materiał do badań subkomórkowych kontrastowano w 0,5% octanie uranylu i cytrynianie ołowiu w roztworze Ringera. Analizę ultrastrukturalną przeprowadzono w mikroskopie elektronowym TEM 900 PC Opton (RFN).

**Wyniki i omówienie:** Stosunkowo często, zwłaszcza u pstrągów grupy 2, obserwowano stłuszczenie zwykle hepatocytów. Inne zmiany submikroskopowe stwierdzono rzadko, aczkolwiek częściej, u ryb grupy 2. Spośród nich dominowały niewielkie zmiany w mitochondriach (obrzemienie, obecność ciałek gęstych, a sporadycznie zatarcie struktury grzebieniastej i rozrzedzenie macierzy). Bardzo rzadko obserwowano w cytoplazmie hepatocytów struktury mielinopodobne i częściową martwicę tych komórek. Analiza ultrastrukturalna wykazała niewielkie odstępstwa od normy.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Ciereszko A., Ocalewicz K., 2007. Modern methods for rainbow trout production. A time for trout. Focus on fish Breeding. Academia, 1 (13), 20–23.
- [2] Rozporządzenie Komisji (WE) nr 710/2009 z dnia 5 sierpnia 2009 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 889/2008 ustanawiające szczegółowe zasady wdrażania rozporządzenia Rady (WE) nr 834/2007 w odniesieniu do ustanawiania szczegółowych zasad dotyczących ekologicznej produkcji zwierzęcej w sektorze akwakultury i ekologicznej produkcji wodorostów morskich. Dz. Urz. L 204, 06/08/2009 P. 0015.
- [3] Żelazny J., 2007. Wpływ warunków hodowli na bezpieczeństwo zdrowotne ryb przeznaczonych do konsumpcji, [w:] Żelazny J., Ochrona zdrowia w gospodarce rybackiej. PIW-PIB Puławy, 73–81.





## OCENA SKUTECZNOŚCI KWAŚNYCH PREPARATÓW BIOBÓJCZYCH WOBEC DROBNOUSTROJÓW POTENCJALNIE PATOGENNYCH DLA RYB

### ASSESSMENT OF THE EFFECTIVENESS OF SOME BIOCIDES PREPARATIONS APPLIED IN THE HEALTH CARE OF FISH

Elżbieta Terech-Majewska<sup>1</sup>, Patrycja Modzelewska<sup>1</sup>, Joanna Grudniewska<sup>3</sup>, Alicja Bernad<sup>4</sup>,  
Andrzej Krzysztof Siwicki<sup>2</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: etam@uwm.edu.pl, <sup>2</sup>Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, <sup>3</sup>Zakład Hodowli Ryb łososiowatych IRS Rutki, 83-332 Żukowo  
<sup>4</sup>Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Warszawska 109, 10-702 Olsztyn

Dezynfekcja w akwakulturze to metoda ochrony zdrowia ryb poprzez niszczenie żywych i przetrwalnikowych form mikroorganizmów oraz uniemożliwienie ich wtórnego rozwoju. Metoda jest skuteczna wobec patogenów bakteryjnych, wirusowych, grzybiczych, jak również niektórych pasożytniczych skóry i skrzelii.

**Cel pracy:** Ocena skuteczności kwaśnych preparatów biobójczych (Dezynfektant CIP, Steridial W-15) na podstawie Normy Polskiej PN-EN 1276 [1].

**Materiał i metody:** W badaniu wykorzystano drobnoustroje wyizolowane z przypadków klinicznych od ryb, zidentyfikowane przy użyciu API NE (Bio-Merieux) jako *Aeromonas salmonicida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Shewanella putrefaciens*, *Yersinia ruckeri*. Robocze hodowle mikroorganizmów testowych przygotowano poprzez dwu-, trzykrotne przesiewy inokulum, pobranego z hodowli wyjściowej, na skosy TSA, następnie inkubowano przez 24 h w temp. 22 lub 36°C (w zależności od hodowanego szczepu). Liczba komórek bakteryjnych w sporządzonej zawieszynie roboczej odpowiadała wartościom od 1,5 do 5,0 x 10<sup>8</sup> jtk/cm<sup>3</sup> (oszacowana za pomocą skali McFarlanda). Do oznaczenia liczby komórek zastosowano metodę płytkową oraz obliczenia ściśle wg normy PN-EN 1276 [1]. Działanie bakteriobójcze środków dezynfekcyjnych badano w czterech różnych stężeniach – 1; 0,5; 0,25; 0,1%, zbliżonych do koncentracji roztworów użytkowych. Oceniano stopień zahamowania wzrostu bakterii poddanych działaniu środka biobójczego.

**Wyniki i omówienie:** Dezynfekcja jako metoda profilaktyki i terapii jest powszechnie stosowana w akwakulturze. Dewastacja potencjalnie patogennych drobnoustrojów podczas inkubacji ikry i podchowu ryb stanowi podstawę profilaktyki. Kwaśne środki biobójcze (Dezynfektant CIP, Steridial W-15) są uznanymi środkami dla przemysłu spożywczego jako bezpieczne i biodegradowalne. Są także stosowane w akwakulturze. Uzyskane wyniki badań wskazują, że pomimo podobnego składu chemicznego różnią się między sobą skutecznością wobec użytych drobnoustrojów terenowych. Zarówno dezynfektant CIP, jak i Steridial W-15 okazały się skuteczne wobec *Yersinia ruckeri* w stężeniach 1, 0,5 oraz 0,25%. Tylko 1% stężenie Steridialu W-15 działało bakteriobójczo na *Aeromonas salmonicida*, natomiast Dezynfektant CIP w żadnym stężeniu nie powodował redukcji wzrostu tego patogenu. Żaden z obydwu środków nie powodował redukcji wzrostu zdolnych do życia bakterii *Pseudomonas fluorescens*. Nieskuteczne okazały się również wobec *Shewanella putrefaciens*. Przy wyborze środków biobójczych do dezynfekcji trzeba kierować się ich skutecznością [2]. Jednakże na ogół ocena ich skuteczności jest prowadzona wobec szczepów standardowych. Uzyskane wyniki badań wskazują na potrzebę oceny wobec szczepów terenowych, aby wybierać preparaty o sprawdzonej skuteczności.

#### Piśmiennictwo:

- [1] PN-EN 1276:2000 Ilościowa zawieszinowa metoda określania działania bakteriobójczego chemicznych środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych stosowanych w sektorze żywnościowym, warunkach przemysłowych i domowych oraz zakładach użyteczności publicznej – Metoda badania i wymagania (faza 2, etap 1).
- [2] Terech-Majewska E., Grudniewska J., Gołaś I., Kazuń K., Siwicki A.K., 2005. Dezynfekcja – jako metoda profilaktyki i zwalczania chorób ryb, [w:] A.K. Siwicki, W. Szweđa (red.), Ochrona zdrowia ryb – aktualne problemy profilaktyki i terapii. Wyd. IRS Olsztyn, 31–36.





## WPŁYW INWAZYJNEGO NICIENIA *ANQUILLICOLA CRASSUS* NA MECHANIZMY ODPORNOŚCI KOMÓRKOWEJ U WĘGORZA EUROPEJSKIEGO (*ANQUILLA ANQUILLA*)

### INFLUENCE OF INVASIVE NEMATODE *ANQUILLICOLA CRASSUS* ON THE CELLULAR DEFENSE IMMUNITY IN EUROPEAN EEL (*ANQUILLA ANQUILLA*)

Elżbieta Terech-Majewska<sup>1</sup>, Stanisław Robak<sup>3</sup>, Ewa Szczucińska<sup>2</sup>, Monika Zembruska<sup>2</sup>, Krzysztof Andrzej Siwicki<sup>2</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: etam@uwm.edu.pl, <sup>2</sup>Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, <sup>3</sup>Zakład Ichtiologii Instytut Rybactwa Śródlądowego, ul. Oczapowskiego 10, 10-957 Olsztyn

Polska na mocy założeń „Planu gospodarowania zasobami węgorza w Polsce” (PGZWP) zobowiązała się do odtworzenia stanu populacji węgorza z lat 60. i 70. ubiegłego stulecia. Oznacza to potrzebę monitorowania stanu zdrowotnego ryb, które aktualnie są odławiane m.in. u wybrzeży Południowej Europy, a następnie podchowywane do stadium narybku obsadowego o masie do 200 g. W warunkach kontrolowanego podchowu węgorz zapada na typowe choroby inwazyjne dla ryb hodowlanych innych gatunków w podobnych warunkach środowiska, wywoływane przez: *Ichthyophthirius multifiliis* czy *Pseudodactylogyrus* sp. Odławiany z wód naturalnych jest w około 80% zarażony nicieniem *Anquillicola crassus* (A.C.). Nicień wywołuje chorobę pęcherza pławnego (p.p.), osobniki dorosłe i larwy L4, bytujące w pęcherzu pławnym, żywią się krwią i poważnie uszkadzają strukturę ściany p.p. Forma inwazyjna (L3) bytująca w organizmach żywicieli pośrednich, paratenicznych i metaparatenicznych, może zasiedlać węgorze w każdym stadium rozwoju.

**Materiał i metody:** Badaniom poddano ryby przeznaczone do zarybienia Zalewu Szczecińskiego w 2011 r. Do badań pobierano narządy krwiotwórcze (nerka głowowa i śledziona) oddzielnie od dwóch grup ryb różnego pochodzenia. Grupa A liczyła 64 sztuki (4 zarażone A.C.), grupa B liczyła 45 sztuk (7 zarażonych A.C.). Narządy od ryb zarażonych nicieniem (AN i BN) pobierano do oddzielnych próbek zbiorczych. Komórki izolowano przez wirowanie w gradiencie Gradisolu (Polfa). Do określenia aktywności metabolicznej makrofagów zastosowano test wewnątrzkomórkowego wybuchu tlenowego (RBA) stymulowanego PMA oraz test PKA do oceny zdolności fagocytarnej makrofagów. Aktywność proliferacyjną limfocytów określano testem MTT po stymulacji mitogenami Con A i LPS (Sigma).

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki badań mierzone poziomem ekstynkcji (T – wartość średnia) wykazały istotne różnice parametrów odporności komórkowej. RBA dla grupy A wynosiło 0,29 (AN 0,166), a dla grupy B 0,260 (BN 0,326). Aktywność bójcza PKA kształtowała się na poziomie ekstynkcji dla grupy A 0,138 (AN 0,119) oraz grupy B 0,132 (BN 0,137). Stwierdzono istotne różnice poziomu MTT, odpowiedzi proliferacyjnej limfocytów B i T, pomiędzy grupami A/B ( $T_A$  1,52/ $T_B$  1,85), jak również pomiędzy grupami A/AN ( $T$  1,52/1,34) oraz B i BN ( $T$  1,3/1,063). Uzyskane wyniki badań wskazują na zróżnicowany poziom odporności komórkowej u węgorza europejskiego, który w nowych warunkach środowiska, po zarybieniu, może być bardziej podatny na zarażenia czynnikami potencjalnie patogennymi dla tego gatunku ryb.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Robak S., Nermer T., 2012. Założenia i główne zadania „Planu gospodarowania zasobami węgorza w Polsce. Kom. Ryb. 1: 29–33.
- [2] Rolbielski L., 2011. Nowe dane na temat rozprzestrzenienia inwazyjnego nicienia *Anquillicola crassus* (*Anquillicoidea*) u węgorzy na terenie Polski. Kom. Ryb, 4, 9–13.
- [3] Siwicki A.K., Robak S., 2011. The innate immunity of European eel (*Anquilla anquilla*) growing in natural conditions and intensive system of rearing. Centr. Eur. J. of Immunol. 36, 130–134.



## ZAGROŻENIA ZDROWOTNE U NOWYCH GATUNKÓW RYB W PODCHOWACH KONTROLOWANYCH

### HEALTH HAZARDS IN THE NEW FISH SPECIES IN CONTROLLED BREEDINGS

Elżbieta Terech-Majewska<sup>1</sup>, Alicja Bernad<sup>3</sup>, Joanna Grudniewska<sup>4</sup>, Andrzej Krzysztof Siwicki<sup>2</sup>

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, <sup>1</sup>Katedra Epizootiologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn, e-mail: etam@uwm.edu.pl, <sup>2</sup>Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, <sup>3</sup>Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Warszawska 109, 10-702 Olsztyn, <sup>4</sup>Zakład Hodowli Ryb łososiowatych IRS Rutki, 83-332 Żukowo

Rozwój akwakultury stwarza nowe możliwości rozwoju sektora rolnictwa i rybactwa śródlądowego w Polsce. Największy postęp jest widoczny w wylęgarnictwie oraz hodowli ryb łososiowatych. Do nowych gatunków ryb w podchowach kontrolowanych można zaliczyć: sieję, sandacza, szczupaka, suma afrykańskiego, węgorza, jesiotra, baramundi. Każdy z tych gatunków wymaga odrębnych procedur żywieniowych i higienicznych, jednakże zagrożenia zdrowotne wydają się być bardzo zbliżone. Ryby są rutynowo poddawane kontroli stanu zdrowia, głównie w momentach sprzedaży do dalszej hodowli lub w sytuacji pojawienia się zwiększonego poziomu śnięć oraz innych objawów chorobowych (zmiany na skórze, skrzelach).

**Cel pracy:** Ocena stanu zdrowia ryb na podstawie wyników badań prowadzonych z Zakładzie Higieny Weterynaryjnej w Olsztynie.

**Materiał i metody:** Analizie poddano wyniki badań laboratoryjnych prowadzonych przez Laboratorium Diagnostyki Chorób Ryb i Raków Zakładu Higieny Weterynaryjnej Państwowej Inspekcji Weterynaryjnej w Olsztynie, w latach 2009 i 2010. Ryby pochodziły z gospodarstw rybackich z terenu województw warmińsko-mazurskiego oraz podlaskiego.

**Wyniki i omówienie:** W badaniach bakteriologicznych od ryb z gatunków nowych w akwakulturze izolowano *Aeromonas hydrophila* com., *Pseudomonas fluorescens* i *Shewanella putrefaciens*. W badaniach parazytologicznych najczęściej stwierdzano pasożyty należące do gatunków: *Chilodonella* sp., *Trichodina* sp., *Apiosoma* sp., *Trypanosoma* sp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Gyrodactylus* sp., *Dactylogyrus* sp., *Khavia* sp., *Argulus* sp., *Piscicola* sp. Zagrożenia zdrowotne wiążą się głównie z nieprzestrzeganiem higieny oraz trudnością procesu adaptacyjnego w okresie wylęgu oraz podchowu. Czynniki biologiczne zagrażające zdrowiu ryb towarzyszą hodowli przez cały czas jej trwania. Trudno jest je wyeliminować ostatecznie. Izolowane bakterie należą do grupy czynników warunkowo chorobotwórczych i o zachorowaniu decyduje przede wszystkim kondycja ryb. Pasożyty występujące u badanych gatunków ryb także można byłoby sklasyfikować jako towarzyszące hodowli ryb. Stwierdzano je również u ryb łososiowatych i karpowatych. Jednakże u niektórych gatunków stwierdzano specyficzne dla nowych gatunków pasożyty, np. *Capriniana* sp. u siei i szczupaka, *Trichophrya* sp. u szczupaka, siei i lina, *Asymphylogora tincae* u lina, *Azygia mini* u szczupaka. Z analizy wyników badań można wywnioskować, że nowe gatunki są także podatne na powszechnie występujące u ryb bakterie i pasożyty. Wobec tych zagrożeń w gospodarstwach hodujących te gatunki ryb należy stosować się do procedur ochrony, z uwzględnieniem różnic gatunkowych decydujących o ich skuteczności. Za zupełną nowość w akwakulturze należy uznać hodowlę australijskiej okoniowatej ryby baramundi, która przylatuje jako 2,5 cm narybek samolotem [1]. Następnie jest poddawana kwarantannie i po okresie adaptacji hodowana do wielkości ryby konsumpcyjnej o masie 500–600 g, utrzymywana jest w systemach zamkniętego obiegu wody, co stwarza dobre warunki do kontroli i profilaktyki przed zagrożeniami, m.in. biologicznymi. Status zdrowotny tego gatunku jest bardzo dobry, co potwierdzają wyniki prezentowanej analizy. U ryb tego gatunku, hodowanych zgodnie z opracowanymi procedurami higienicznymi, nie stwierdza się chorób ani pasożytów.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Zakęś Z., Partyka K., Hopko M., Kowalska A., Wierzbicki A., 2012, Nowe gatunki – innowacyjne technologie w polskiej akwakulturze, *Kom. Ryb.*, 1, 16–19.



## IZOLACJA I CHARAKTERYSTYKA MOLEKULARNA WIRUSÓW NOWO WYSTĘPUJĄCYCH W POLSCE PATOGENNYCH DLA RYB

### ISOLATION AND MOLECULAR CHARACTERISTIC EMERGING FISH DISEASES IN POLAND

Ewa Borzym, Joanna Maj, Marek Matras, Magdalena Stachnik, Agnieszka Sandomierska

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Ryb, Al. Partyzantów 57,  
24-100 Puławy, e-mail: ewa.borzym@piwet.pulawy.pl

Wprowadzanie nowych technologii rozrodu i hodowli ryb przyczyniło się do osiągnięcia sukcesów w dziedzinie rozwoju rybactwa śródlądowego. Jednak intensyfikacja produkcji ryb pociąga za sobą wiele zagrożeń. Jednym z nich są nowo pojawiające się choroby występujące w populacji po raz pierwszy lub też choroby, które istniały wcześniej, ale w wyniku większej częstotliwości ich występowania na nowych obszarach geograficznych objawiają się w inny sposób poprzez wzrost patogenności, dobór kolejnych gospodarzy, wzrost częstotliwości występowania oraz rozprzestrzenienie geograficzne [1].

**Cel badań:** Identyfikacja oraz charakterystyka wirusów ryb wyizolowanych po raz pierwszy w Polsce.

**Materiał i metody:** Materiał do badań wirusologicznych stanowiły próbki sporządzone z narządów wewnętrznych słodkowodnych ryb łososiowatych. Zmiany cytopatyczne uzyskane w liniach komórkowych zakażonych supernatantem pochodzących z badanych próbek były wskazaniem do identyfikacji patogenu wirusowego. W tym celu wykonano testy ELISA, PCR wraz z jego modyfikacjami oraz sekwencjonowanie produktów reakcji z uwzględnieniem metod nowej generacji (SISPA) polegającej na amplifikacji nieznanego DNA przy użyciu pojedynczego nieswoistego startera [2].

**Wyniki i omówienie:** W wyniku prowadzonych badań po raz pierwszy w Europie wyizolowano oraz scharakteryzowano hirame rabdowirusa (HIRRV) od lipieni i pstrągów potokowych z południowej Polski, co stanowi przykład pojawienia się nowych gospodarzy w patogenezie tej jednostki chorobowej. Przykładem nowo pojawiającej się choroby, która z kolei zwiększyła swój zasięg występowania, obejmując obszar Polski, są potwierdzone przypadki poprzez wyizolowanie alfawirusa wywołującego śpiączkę ryb łososiowatych (SDV) w populacji pstrągów tęczowych. Analiza filogenetyczna występującego w Polsce alfawirusa wykazała, że jest to podtyp SAV2.

Czynniki przyczyniające się do występowania nowych jednostek chorobowych to przede wszystkim transport zaoczkowanej ikry, brak kwarantanny w przypadku importu ryb i szerokie źródła pozyskiwania materiału zarybieniowego. Odpowiednio dobrane metody diagnostyczne pozwalają na sprawną identyfikację patogenu, jednak dobra praktyka produkcyjna w gospodarstwach rybackich jest podstawowym elementem zapobiegania pojawiania się nowych jednostek chorobowych w akwakulturze.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Okamura B., Feist S.W., 2011. Emerging disease in freshwater systems. *Freshwater Biology*, 56, 627–637.
- [2] Djikeng A., Spiro D., 2009. Advancing full length genome sequencing for human RNA viral pathogens. *Future Virol.*, 4, 47–53.



## PATOGENNOŚĆ CYHV-3 ORAZ WPŁYW NA KOMÓRKOWE I HUMORALNE MECHANIZMY OBRONNE U KARPIA (*CYPRINUS CARPIO*)

### PATHOGENECITY OF CYHV-3 AND INFLUENCE ON THE CELLULAR AND HUMORAL DEFENCE MECHANISMS IN CARP (*CYPRINUS CARPIO*)

Andrzej Krzysztof Siwicki<sup>1</sup>, Elżbieta Terech-Majewska<sup>2</sup>, Krzysztof Kazuń<sup>1</sup>, Agnieszka Lepa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Patologii i Immunologii IRS Olsztyn, ul. Oczapowskiego 10, 10-917 Olsztyn-Kortowo, e-mail: aksiw@infish.com.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej Katedra Epizootologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn

Herpeswirus karpia – 3 (CyHV-3) jest wirusem wysoce patogennym wywołującym chorobę określaną jako śródmiąższowe zapalenie nerek i martwicę skrzelu karpia. CyHV-3 ma dwudziestościenną morfologię przypominającą wirusa opryszczki, ale jego genom (277 kbp) podwójnego łańcucha DNA jest większy od innych wirusów zaliczanych do rodziny *Herpesviridae*. Ryby młode są bardziej wrażliwe na wirus niż ryby starsze. Wirus lokalizuje się w komórkach nabłonka skrzelowego, hepatocytach, komórkach nerki, zwojach nerwowych oraz w limfocytach naczyń włosowatych. Atakuje również komórki nabłonkowe skóry. Istotnym elementem rozwoju zakażenia jest temperatura wody. Optymalna temperatura dla rozwoju choroby waha się między 18–24°C. Jak wynika z danych literaturowych, patogenność CyHV-3 nie jest dostatecznie poznana.

**Cel badań:** Określenie wpływu CyHV-3 na komórkowe i humoralne mechanizmy obronne po eksperymentalnym zakażeniu narybku karpia w warunkach kontrolowanych.

**Materiał i metody:** Do badań użyto 200 sztuk zdrowych karpia o masie ciała 10–20 g. Ryby podzielono na dwie grupy po 100 szt. które przetrzymywano w basenach 1000 L w temperaturze wody 22°C. Po 2 tyg. adaptacji ryby grupy doświadczalnej zakażono dootrzewnowo CyHV-3 (1 x 10<sup>6</sup> pfu/ml RPMI-1640; 0.2 ml). Krew i narządy (nerka głowowa i śledziona) pobierano każdorazowo od 10 szt. ryb w 3., 5., 7. i 14. dniu po zakażeniu. Leukocyty izolowano przez wirowanie w gradiencie Histopaque-1077 (Sigma) lub Gradisol (Polf). Do określenia aktywności metabolicznej makrofagów użyto testu wewnątrzkomórkowego wybuchu tlenowego (RBA) stymulowanego PMA oraz testu PKA do oceny zdolności fagocytarnej makrofagów. Aktywność limfocytów określano testem MTT po stymulacji mitogenami ConA i LPS (Sigma). W surowicy oznaczano aktywność lizozymu i ceruloplazminy oraz poziom Ig przy użyciu metod spektrofotometrycznych.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki badań wykazały, że CyHV-3 wykazuje silne działanie supresyjne na aktywność metaboliczną i fagocytarną makrofagów oraz na aktywność proliferacyjną limfocytów T i B, już od 3. dnia po zakażeniu. Również stwierdzono statystycznie istotne (P<0,05) obniżenie aktywności lizozymu i poziomu Ig, przy istotnym wzroście aktywności ceruloplazminy już od 3. dnia po zakażeniu. CyHV-3 wykazuje silne działanie immunotropowe, obniżając aktywność komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych u karpia.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Siwicki A.K., Lepa A., Małaczewska J., Kazuń B., Kazuń K., Terech-Majewska E., 2006. Isolation and identification of carp interstitial nephritis and gill necrosis virus (CNGV) in fingerling common carp (*Cyprinus carpio*). Arch. Pol. Fish. 14, 157–167.
- [2] Siwicki A.K., Małaczewska J., Lepa A., 2008. Influence of CyHV-3 on macrophage and lymphocyte activity in carp (*Cyprinus carpio*) – an *in vitro* study. International Workshop on CyHV-3 – Cyprinid herpes viruses: basic and applied aspects, Hebrew University, Israel, 32–33.





## WSTĘPNA OCENA SZCZEPIONKI KOVAX W PROFILAKTYCE ZAKAŻEŃ CYHV-3/KHV U KARPIA (*CYPRINUS CARPIO*)

### INITIAL EVALUATION OF KOVAX VACCINE IN PREVENTION OF CYHV-3/KHV INFECTIONS IN CARP (*CYPRINUS CARPIO*)

Andrzej Krzysztof Siwicki<sup>1</sup>, Elżbieta Terech-Majewska<sup>2</sup>, Krzysztof Kazuń<sup>1</sup>, Barbara Kazuń<sup>1</sup>,  
Agnieszka Lepa<sup>1</sup>

Zakład Patologii i Immunologii IRS Olsztyn, ul. Oczapowskiego 10, 10-917 Olsztyn-Kortowo,  
e-mail: aksiw@infish.com.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootologii,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn

W ostatnich latach obserwuje się gwałtowny wzrost zachorowalności karpia na CyHV-3, która powoduje wysoką śmiertelność w Europie. Brak jest skutecznych metod zapobiegania i zwalczania tej choroby w chowie stawowym karpia w Europie. Wychodząc naprzeciw potrzebom praktyk firma KoVax z Izraela wyprodukowała pierwszą na świecie szczepionkę stymulującą odporność przeciw zakażeniu CyHV-3.

**Cel badań:** Określenie efektywności protekcyjnej atenuowanej szczepionki KoVax przeciwko zakażeniu CyHV-3 u narybku karpia w zróżnicowanych warunkach temperaturowych chowu karpia w Polsce. Badania te miały odpowiedzieć na podstawowe pytanie, czy w warunkach polskich istnieje możliwość zastosowania tej szczepionki w celu uzyskania wysokiej odporności przeciwko zakażeniu CyHV-3 i znaczące ograniczenie strat powodowanych chorobą.

**Materiał i metody:** Do badań nad oceną skuteczności szczepionki KoVax użyto zdrowego narybku karpia o masie ciała ok. 10 g, który podzielono na grupy (po 100 szt. każda) i przetrzymywano w basenach o zróżnicowanej temperaturze wody: 16, 18, 20 i 22°C. Po 7-dniowej adaptacji ryby poddano szczepieniu szczepionką KoVax podaną w immersji (1 ml szczepionki rozpuszczony w 10 l wody + 1 kg narybku 10 g) przez 40 min. Po 21 dniach ryby poddano eksperymentalnemu zakażeniu w iniekcji CyHV-3 izolowanym od chorych karpia w Polsce (0,2 ml, koncentracja wirusa  $5 \times 10^2$  TCID<sub>50</sub>/ml) w tych samych temperaturach, co szczepienie w immersji oraz w temperaturze 22°C.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki badań wykazały, że stosowana w immersji szczepionka indukuje odporność swoistą, która manifestowała się znacznym ograniczeniem śnięć po zakażeniu eksperymentalnym. Efektywność szczepionki była ściśle uzależniona od temperatury, w której wykonano zabieg szczepienia. Najniższą śmiertelność obserwowano u ryb, które były szczepione i zakażone eksperymentalnie w 22°C, a najwyższą śmiertelność w grupie ryb szczepionych w 16°C i zakażonych w temperaturze 22°C. Uzyskane wyniki jednoznacznie wykazały, że atenuowana szczepionka KoVax indukuje odporność przeciw zakażeniu CyHV-3 izolowanemu od chorych ryb w Polsce. Jednakże istnieje znaczne zróżnicowanie uzyskanej odporności poszczepiennej w zależności od temperatury szczepienia. W niższych temperaturach szczepienia w immersji uzyskuje się u karpia niższą odporność przeciwzakaźną, co jest ściśle związane z aktywnością układu immunologicznego. Stosowanie szczepionki KoVax w warunkach chowu karpia w Polsce wymaga dalszych, ukierunkowanych badań dotyczących optymalizacji warunków szczepienia w naszych warunkach klimatycznych i systemach chowu w celu uzyskania najwyższej odporności komórkowej i humoralnej, gwarantującej ograniczenie do minimum strat powodowanych CyHV-3.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Ronen A., Perelberg A., Abramowitz J., Hutoran M., Tinman S., Bejerano I., Steinitz M., Kotler M., 2003. Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio*. *Vaccine* 21, 4677–4684.
- [2] Siwicki A.K., Małaczewska J., Kazuń B., Wójcik R., 2008. Pathogenesis of CyHV-3: *In vitro* effect on phagocyte activity and cytokine-like protein production in carp (*Cyprinus carpio*), tench (*Tinca tinca*) and sheatfish (*Silurus glanis*). International Workshop on CyHV-3 – Cyprinid herpes viruses: basic and applied aspects, Hebrew University, Israel, 34–35.





## WPŁYW HMB NA NIESWOISTE MECHANIZMY OBRONNE I ODPORNOŚĆ PRZECIWKAZAŃNĄ U RYB

### INFLUENCE OF HMB ON THE NONSPECIFIC DEFENCE MECHANISMS AND ANTISEPTIC IMMUNITY IN FISH

Andrzej krzysztof Siwicki<sup>1</sup>, Elżbieta Terech-Majewska<sup>2</sup>, Barbara Kazuń<sup>1</sup>, Krzysztof Kazuń<sup>1</sup>, Edward Głąbski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Patologii i Immunologii IRS Olsztyn, ul. Oczapowskiego 10, 10-917 Olsztyn-Kortowo, e-mail: aksiw@infish.com.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Katedra Epizootiologii, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn

HMB jest ketokwasem powstającym w wyniku utleniania aminokwasu leucyny w mięśniach. Pochodną ketokwasową L-leucyny jest kwas 2-oksoizokapronowy (KIC). Leucyna ulega transaminacji do KIC, a następnie przechodzi do mitochondriom, gdzie podlega dekarboksylacji do izowaleryloCoA w wyniku działania dehydrogenazy mitochondrialnej. Alternatywny szlak przemian zachodzi w cytozolu, gdzie KIC ulega oksydacji do 3-hydroxy-3-metylomasłanu w związku z działaniem oxygenazy KIC. Wyniki prowadzonych badań wskazują, że stosowanie suplementacji z dodatkiem kwasu 3-hydroxy-3-metylomasłowego (HMB) nie szkodzi zwierzętom (nawet przy 100-krotnym przekroczeniu dawki), poprawia ich kondycję, strukturę mięśni i skraca okres odbudowy po wysiłku, a także wzmacnia odporność organizmu pośrednio przez zmniejszenie procesów proteolizy białka mięśniowego i zwiększaniu ich odporności poprzez wzmocnienie błon cytoplazmatycznych, oraz bezpośrednio przez immunostymulacyjne działanie tego ketokwasu.

**Cel badań:** Określenie w warunkach *in vitro* i *in vivo* wpływu różnych dawek HMB na nieswoiste komórkowe i humoralne mechanizmy obronne oraz odporność przeciwkazaźną u różnych gatunków ryb hodowlanych.

**Materiał i metody:** Badania *in vitro* wykonano na narybku pstrąga tęczowego i suma europejskiego, o masie ciała 50–100 g, określając wpływ różnych stężeń HMB (Metabolic Technologies Inc. Ames, IA, USA) 0, 1, 10, 50 i 100 µg/ml medium na aktywność metaboliczną (RBA) i fagocytarną (PKA) makrofagów izolowanych ze śledziony oraz odpowiedź proliferacyjną limfocytów stymulowanych mitogenami ConA i LPS. Badania *in vivo* wykonano na narybku pstrąga tęczowego, suma europejskiego i sandacza o masie ciała 10–50 g, którym podawano HMB *per os* w dawce 50, 100 i 500 mg/kg komercyjnej paszy przez okres 2, 4 i 8 tyg. Krew i narządy (nerka głowowa i śledziona) do badań pobierano każdorazowo od 10 szt. ryb każdego gatunku 24 godz. po ostatniej suplementacji HMB. Grupę kontrolną stanowiły ryby, które karmiono paszą bez dodatku HMB. Określano te same parametry odporności komórkowej jak w badaniach *in vitro*. Natomiast w surowicy oznaczano aktywność lizozymu i ceruloplazminy oraz poziom białka całkowitego i Ig metodami spektrofotometrycznymi. Równocześnie po suplementacji HMB ryby zakażano eksperymentalnie patogenymi bakteriami *Aeromonas salmonicida* oraz *Yersinia ruckeri* wg przyjętych procedur.

**Wyniki i omówienie:** Uzyskane wyniki badań *in vitro* wykazały, że HMB w stężeniach od 10 do 100 µg/ml wykazuje działanie stymulujące aktywność makrofagów i limfocytów. Podobne wyniki uzyskano po podawaniu HMB w paszy. We wszystkich dawkach i okresach podawania obserwowano statystycznie istotny ( $P < 0,05$ ) wzrost nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych. Równocześnie po zakażeniach eksperymentalnych stwierdzono, że HMB we wszystkich badanych dawkach zmniejszała śmiertelność od 20 do 50% w zależności od gatunku i czasu podawania. HMB jest preparatem bardzo bezpiecznym, nie wykazuje działań ubocznych oraz wpływa immunostymulująco na nieswoiste mechanizmy obronne i odporność przeciw zakażeniom bakteryjnym u ryb.

#### Piśmiennictwo:

- [1] Siwicki A.K., Fuller J.C., Nissen S., Morand M., Pozet F., Vincent F., Kazuń B., 2004. Effect of HMB on *in vitro* proliferative responses of sheatfish (*Silurus glanis*) and catfish (*Ictalurus melas*) limfocytes stimulated by mitogens. Acta Vet. Brno, 73, 119–122.



## CHOROBY MAŁŻY WOLNO ŻYJĄCYCH Z ZATOKI GDAŃSKIEJ

## DISEASES OF WILD BIVALVES FROM THE GULF OF GDAŃSK

Magdalena Stachnik<sup>1,2</sup>, Maciej Wołowicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Ryb,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: magdalena.stachnik@piwet.pulawy.pl

<sup>2</sup>Uniwersytet Gdański, Instytut Oceanografii Zakład Funkcjonowania Ekosystemów Morskich,  
Al. Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia

Światowy poziom konsumpcji małży wykazuje stale rosnącą tendencję, co stwarza konieczność sprawowania nadzoru zarówno nad produkcją, obrotem i przetwórstwem mięczaków pochodzących z hodowli, jak i wolno żyjących. Jednocześnie, małże od wielu lat uważane są za modelowe organizmy wskaźnikowe, zwłaszcza w dziedzinie monitoringu zanieczyszczenia wody i osadów. Z uwagi na osiadły tryb życia i fakt, że jako filtratory i detrytusozercy biorą czynny udział w obiegu materii organicznej, mogą gromadzić w tkankach znaczne ilości szkodliwych substancji w procesie biodepozycji. W wodach polskiej strefy brzegowej Bałtyku można spotkać cztery gatunki małży: omułka jadalnego, rogowca bałtyckiego, małgiew piaszkołaza oraz sercówkę pospolitą [1]. Żaden z tych taksonów nie jest hodowany komercyjnie, m.in. ze względu na klimat oraz zasolenie wód Bałtyku. Charakterystyczne cechy tej grupy organizmów (sesylność, zdolność biodepozycji, kilkuletni czas życia, sposób odżywiania) czynią ją interesującym obiektem badań naukowych. Dodatkowo należy mieć na uwadze fakt, że małże stanowią około 60–80% biomasy zoobentosu w Bałtyku, ponieważ jako nieliczne organizmy mają mechanizmy detoksyfikacyjne, które pozwalają im przetrwać w niekorzystnych warunkach, nawet na dużych głębokościach, gdzie występują okresowe niedobory tlenu i pojawia się toksyczny siarkowodór [6]. Do najczęstszych patologii u *Bivalvia* należą deformacje [3], infekcje pasożytnicze [2], choroby wirusowe [3] oraz nowotwory [4]. Ze względu na specyfikę środowiska wodnego, które ułatwia transfer patogenów bądź zdegradowanego materiału genetycznego, choroby u małży rozprzestrzeniają się w krótkim czasie, zagrażając istnieniu lokalnych subpopulacji, zwłaszcza w akwenach częściowo zamkniętych [6]. Zmniejszenie liczebności gatunków, na skutek podwyższonej śmiertelności w wyniku występowania patologii, ma niekorzystny wpływ w wymiarze funkcjonowania ekosystemu Zatoki Gdańskiej.

### Piśmiennictwo:

- [1] Piesik Z., Obolewski K., Strzelczak A., 2009. Distribution of common bivalves in the polish coastal zone of the Baltic Sea. *Baltic Coastal Zone*, Nr 13b, 33–47.
- [2] Rolbiecki L., Kanarek G., Stachnik M., 2007. *Parvaterma affinis* (Jameson et Nicoll, 1913) James, 1964 in the Baltic clam *Macoma balthica* (Mollusca: Bivalvia) in the Gulf of Gdańsk. *Wiad. Parazyt.* 53 (1), 25–27.
- [3] Sokołowski A., Pawlikowski K., Wołowicz M., Garcia-Meunier P., Namieśnik J., 2008. Shell deformations in the baltic clam *Macoma balthica* from Southern Baltic Sea (the Gulf of Gdańsk). Hypotheses on environmental effects. *Ambio*, 37, Nr 2, 93–100.
- [4] Thiriot-Quievreux C., Wołowicz M., 2001. Chromosomal study of the prevalence of a gill neoplasia in *Macoma balthica* from the Bay of Gdansk. *Ophelia*, 54 (1), 75–81.
- [5] Smolarz K., Wołowicz M., Stachnik M., 2006. First record of the occurrence of "gill disease" in *Mytilus edulis trossulus* from the Gulf of Gdańsk (Baltic Sea, Poland). *J. Invert. Pathol.*, 93, 207–209.
- [6] Wołowicz M., Smolarz K., Sokołowski A., 2005. Neoplasia in estuarine bivalves: effect of feeding behaviour and pollution in the Gulf of Gdańsk (Baltic Sea, Poland), [in:] *The Comparative Roles of Suspension-Feeders in Ecosystems*, 165–182.



## ANALIZA ZAKAŻEŃ BAKTERYJNYCH W WYLĘGARNI KARPIA

### PREVALENCE OF BACTERIAL INFECTIONS IN CARP HATCHERY

Jan Żelazny

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Chorób Ryb,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: zeljan@piwet.pulawy.pl

W ostatnich latach stwierdzano wielokrotnie masowe śnięcie wylęgu karpia ( $K_0$ ) w wylęgarni, szczególnie w tzw. 3. i 4. cyklu inkubacji ikry i przetrzymywania  $K_0$  w podchowalnikach. W związku z powyższym, przeprowadzono badanie bakteriologiczne tarlaków, produktów płciowych, zarodków i wylęgu karpia.

**Materiał metody:** Materiał do badań stanowiły tarlaki karpia, ikra, mlecz, zapłodniona ikra w trakcie inkubacji, wylęg karpia tuż po uwolnieniu się z komórki jajowej oraz wylęg karpia podczas przetrzymywania go w podchowalnikach.

**Wyniki i omówienie:** Badanie bakteriologiczne narządów wewnętrznych tarlaków karpia ( $K_1$ ) wykazało wzrost pojedynczych bakterii *Aeromonas veroni* biotyp *sobria* (1–3 w 1 g narządu) w nerce i wątrobotrzustce oraz *Shewanella putrefaciens* w wątrobotrzustce. Nie stwierdzono natomiast bakterii w produktach płciowych pobieranych od tych tarlaków oraz w zapłodnionej ikrze w okresie pierwszych 48 godzin inkubacji. W okresie 72–120 godzin inkubacji stwierdzono obecność pojedynczych (2–3 w 1 g ikry) bakterii *Xanthomonas maltophilia*. Gwałtowny wzrost liczby bakterii miał natomiast miejsce w momencie wylęgania się wylęgu karpia oraz przetrzymywania go w podchowalnikach przez okres 24–96 godzin. Stwierdzano wówczas 3200–3700 bakterii (w 1 g wylęgu karpia) takich jak *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Alcaligenes* sp., *Providencia rettgeri* oraz tylko w trakcie wylęgania się ryb w słojach Weiss'a *Moraxella* sp. i *Xanthomonas maltophilia*.

Bakterie *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veroni* biotyp *sobria* i *Pseudomonas* sp. stanowią od wielu lat przyczynę infekcji bakteryjnych u karpia i innych gatunków ryb słodkowodnych. Zatem obecność ich u  $K_0$  jest niepożądana, bowiem może przyczyniać się do wywoływania niektórych chorób u wylęgu, ale również w stadium wycieru lub narybku. Niebezpieczna dla karpia może okazać się również *Providencia rettgeri* (dawna nazwa *Proteus rettgeri*), stwierdzona w Polsce po raz pierwszy, która powodowała masowe śnięcie tołpygi w Izraelu [1]. Podobne zagrożenie dla ryb może być ze strony *Pseudomonas alcaligenes*, która była przyczyną śnięcia węgorza w Japonii [2]. Obecność bakterii z rodzaju *Alcaligenes* u  $K_0$  wydaje się być jedynie przypadkową, bez istotnego zagrożenia dla stanu zdrowotnego karpia.

#### Pismiennictwo:

- [1] Bejerano Y., Sarig S., Horne M.T., Roberts R.J., 1979. Mass mortalities in silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes) associated with bacterial infection following handling. J. Fish Dis., 2, 49–56.
- [2] Wakabayashi H., Egusa S., 1972. Characteristics of a *Pseudomonas* sp. from an epizootic of pondcultured eels (*Anguilla japonica*). Bull. Jap. Soc. Fish. 38, 577–587.



## INDEKS AUTORÓW

Adamiak Zbigniew .....	138, 152, 373	Beeger Sławomir .....	668
Adamski Maciej .....	41	Bełkot Zbigniew.....	553, 555, 558, 560
Adaszek Łukasz.....	139	Bereznowski Andrzej .....	159
Alenius Stefan .....	260	Bernad Alicja .....	706, 708
Andrzejewska Anna .....	705	Białowąż Józef .....	580
Aniołek Olga .....	213	Biazik Anna.....	130, 133, 144, 157, 163, 166, 167, 174
Antończyk Agnieszka .....	337, 360, 450	Bielarczyk Andrzej .....	65
Antosik Paweł .....	208, 453	Bielas Wiesław.....	450
Anusz Krzysztof.....	681, 688	Bielecki Wojciech.....	357, 651, 652, 653
Ashash Udi .....	395	Bieńko Marek.....	630
Atamaniuk Wojciech.....	284, 311, 358, 374	Biernacka Maria.....	402
Augustynowicz-Kopec Ewa.....	698	Bierowiec Karolina .....	265, 266, 288
Babińska Izabella .....	648, 676, 705	Bieżyński Janusz .....	256, 289, 290, 351, 386
Bah Mamadou.....	257, 270	Bigoraj Ewelina .....	505, 661, 684
Bajzert Joanna .....	184, 345	Bilyk Ruslan.....	506, 511
Bakuła Tadeusz .....	495, 497, 586	Binek Marian.....	599
Balcerek Roman.....	265	Bis-Wencel Hanna .....	32, 33, 48
Balicki Ireneusz.....	285, 375	Bleiholder Anne.....	346
Bałasińska Bożena .....	617	Błachuta Małgorzata .....	195
Banach Agnieszka.....	161, 259	Błaszczak Borys .....	357
Bancerz-Kisiel Agata.....	155, 156, 466, 467, 595, 596, 607, 608, 609	Błądek Tomasz .....	107, 108
Bania Jacek .....	316, 464, 501, 519, 531, 565, 566	Błędnia Anna .....	654
Bańbura Marcin W. ....	612, 618, 632	Bobowiec Ryszard .....	176, 258, 605
Baran Ireneusz .....	62	Bobrek Kamila .....	403
Baran Monika .....	87, 102, 106	Bobusia Katarzyna.....	404
Barańska Marta.....	129, 149	Bocheńska A. ....	348
Barski Dariusz.....	86, 111	Bochniarz Mariola.....	230, 243, 272
Barszcz Karolina.....	286, 287, 367, 391, 411, 610, 611, 651, 652, 680	Bodarski Rafał.....	250
Bartoszek Przemysław .....	169	Bogacki Marek .....	99
Bartyzel Bartłomiej J. ....	330, 331, 332, 333, 625	Bogdaszewski Marek.....	52
Batorczak Zofia .....	65	Bojanowska Monika.....	209
Baumgartner Walter.....	199	Bojarczyk Mieczysław.....	48
Bażanów Barbara.....	162	Bombik Elżbieta.....	34
Bednarek Dariusz .....	186, 254	Bombik Teresa .....	34
Bednarko-Młynarczyk Elżbieta.....	520, 538, 552	Bonecka Joanna .....	366
Bednarski Michał... 206, 417, 649, 650, 670, 674, 689		Boniecki Piotr .....	452
		Boos Alois.....	387
		Boratyńska-Jasińska Anna .....	602



Borkowska Joanna.....	312, 377	Costa Luis Lopes da .....	251
Boroń Marlena.....	275	Cwynar Przemysław.....	36, 38
Borowicz Hieronim.....	145, 146, 147, 148, 177	Cybulski Wojciech.....	574
Boruszewska Dorota .....	251, 273	Cymerys Joanna.....	612, 618, 632
Borzym Ewa .....	697, 700, 709	Czaban Stanisław.....	38
Brodowski Andrzej.....	71	Czarniecka Ewelina .....	232
Brodzki Adam.....	291, 292, 451	Czekaj Hanna .....	414, 415, 421
Brodzki Piotr.....	230, 274, 291, 292, 451	Czeladko Jarosław.....	207, 218
Bryl Monika .....	32, 33	Czerski Albert.....	294, 412, 413, 597
Brzana Adam.....	293, 379	Czerski Marian.....	580
Brzozowska Anna.....	215	Czogala Joanna .....	143
Brzuzan Paweł.....	478	Czopowicz Michał.....	255, 653
Bubel Fabiola.....	525, 526	Czyż Karolina.....	391, 680
Budniak Sylwia .....	507, 514, 515	Czyż Katarzyna .....	37
Bukowska Dorota .....	208, 369	Czyż Krzysztof .....	391, 680
Burek Anna .....	41	Danek Janusz.....	178, 209
Burmańczuk Artur .....	557	Dąbrowski Michał .....	475, 476, 496, 363
Busol Lesya.....	511	Dec Marta.....	233, 241, 613
Bystroń Jarosław .....	519, 531	Dejewska Tatiana.....	452
Cebulka Joanna .....	87	Dejneka Grzegorz Jakub.....	275, 261, 203, 253
Cekiera Agnieszka.....	295, 296, 297	Demiaszkiewicz Aleksander Wiaczesław.....	341, 389, 662, 672
Cepiel Alicja .....	297, 338, 362	Denisiuk Marta.....	460
Chałabis-Mazurek Agnieszka .....	88	Depta Andrzej.....	302
Chełmońska-Soyta Anna.....	184, 383, 606	Deptuła Wiesław.....	640
Chmielewska Anna .....	612, 618, 632	Dębski Bogdan.....	275
Chmielewska Małgorzata .....	484	Diniz Patricia .....	251
Chmielowiec-Korzeniowska Anna .....	35	Dobosz Stefan .....	705
Chojnacka Katarzyna.....	412, 413	Dobosz Tadeusz.....	675
Chorąży Łukasz .....	61	Dobrzański Zbigniew.....	37, 38, 42
Chorbiński Paweł.....	683	Dolka Beata .....	397, 407, 408, 418
Chrobak Dorota.....	599, 692	Dolka Izabella .....	299, 341, 411, 418
Chrobocińska Marta .....	505, 661, 684	Domańska Dominika.....	131
Chrószcz Aleksander .....	150, 412, 413, 573, 631	Domańska-Blicharz Katarzyna.....	398, 409, 410, 422, 431
Chrząstek Klaudia .....	396, 405, 406	Domino Małgorzata.....	465
Chyłek-Purchała Maja .....	480	Doner Sylwia.....	402, 411
Ciaputa Rafał.....	298, 301, 315, 328, 343	Drabik Agata.....	35
Ciçkiewicz Maciej.....	367, 391, 680	Dragan Maciej.....	703
Ciechanowicz Andrzej K.....	188	Dratwa-Chałupnik Alicja .....	187, 188
Ciecierska Anna.....	252, 268, 269		
Cisek Agata.....	692		





- Drożdżyńska Maja..... 284  
Drynda Angelika ..... 89  
Drzewiecka Agnieszka..... 131  
Dudek Agnieszka..... 614, 631  
Dudek Katarzyna..... 186, 254  
Dudko Przemysław ..... 90, 93  
Durkalec Maciej..... 55  
Duszeńska Anna Maria..... 641, 642  
Dworecka-Kaszak Bożena..... 598, 615  
Dymek Wojciech ..... 577  
Działo Joanna..... 640  
Dzieciatkowski Tomasz..... 612, 618  
Dziedzic Roman ..... 668  
Dziekan Natalia ..... 82  
Dzięcioł Michał..... 300, 360  
Dzięgiel Piotr ..... 316, 328  
Dzimira Stanisław..... 94, 104, 298, 301, 308, 315, 328, 351, 663  
Dzisko Janusz ..... 596  
Feige Karsten..... 125  
Felsmann Mariusz Z..... 575  
Filip Rafał ..... 638  
Fleischer-Stępniewska Katarzyna ..... 15  
Florek Magdalena ..... 601, 616, 623  
Frąckowiak Hieronim ..... 208  
Frymus Tadeusz..... 346  
Furga Beata..... 87  
Gaca Katarzyna..... 617  
Gajda Anna ..... 107, 108, 118  
Gajewska Małgorzata ..... 249  
Gajewski Zdzisław..... 131, 213, 465, 580, 581  
Gajęcka Magdalena..... 475, 476, 478, 483, 485, 488, 493, 496  
Gajęcki Maciej..... 475, 476, 478, 479, 485, 488, 489, 493, 496  
Ganter Martin..... 255  
Garbal Marcin..... 392  
Garncarz Magdalena..... 327, 376  
Gawęł Andrzej ..... 403, 404  
Gbylik Małgorzata..... 108  
Gehrke Marek ..... 209, 210, 214, 248  
Gembal Magdalena ..... 87  
Gemra Marianna ..... 189, 468, 469  
Gesek Michał..... 302, 342, 344, 368  
Giorgi Mario ..... 605  
Giza Elżbieta..... 177, 303, 304, 370, 371, 372  
Giżejewska Aleksandra..... 86, 655  
Giżejewski Zygmunt ..... 655  
Glińska-Suchocka Kamila ..... 227, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 322, 355, 359  
Gładysz Andrzej ..... 15  
Głąbski Edward..... 712  
Głodek Karolina ..... 39  
Gnat Sebastian ..... 668  
Gnus Jan..... 597  
Godlewska Agata..... 651, 652, 653  
Godlewski Michał M..... 185, 192, 632  
Goldsztejn Magdalena ..... 477, 559  
Goleman Małgorzata..... 375  
Goliński Piotr..... 483  
Golke Anna ..... 612, 618, 632  
Gołda Ryszard..... 132, 164, 211  
Gołębiowska Agata..... 486  
Gołębiowski Marek ..... 330, 331, 332, 333  
Gomółka-Pawlicka Małgorzata... 509, 510, 527, 530  
Gondek Michał ..... 553, 558  
Gorczykowski Michał ..... 231, 345  
Gorło Grzegorz ..... 476  
Gospodarek Eugenia..... 596  
Gotowiecka Marta ..... 337  
Góraj Łukasz ..... 109, 113  
Górecka Justyna..... 508  
Górski Krzysztof..... 460  
Górzyńska Elżbieta..... 298  
Graboś Dorota ..... 630  
Graczyk Stanisław ..... 137, 168, 189, 424, 468, 469  
Graża Patrycja..... 510  
Grądział-Krukowska Katarzyna ..... 528  
Grądzki Zbigniew..... 134, 135, 136, 139, 212, 455, 456, 457, 458, 459, 656, 684, 698



Grelik Aleksandra.....	487, 491, 492	Jakubik Grzegorz .....	578
Grenda Tomasz.....	477, 559	Jakubowski Tadeusz .....	213, 580, 581
Gręda Tomasz .....	212	Jałyński Marek .....	381
Grudniewska Joanna.....	706, 708	Janeczek Maciej.....	412, 413, 573, 614
Grupiński Tomasz .....	66	Janeczek Witold .....	41
Grzegory Maciej.....	305, 306, 307, 308, 310, 322, 359	Janeczko Krzysztof .....	231
Grzeszczuk-Kuś Karolina .....	294	Janik Paulina .....	524, 525, 526
Grzymajło Krzysztof .....	620	Janiszewski Adrian .....	282, 297, 338, 362, 454, 462, 464
Gulbinowicz-Gowkielewicz Monika.....	619	Janiszewski Paweł .....	52
Gumienna Justyna.....	165	Jank Michał .....	327, 376, 604, 622
Gumuła Teresa .....	175	Jankowska Ewa.....	464
Guz Leszek.....	698	Jankowski Marcin .....	227, 305, 306, 307, 308, 310, 322, 359
Guziur Janusz.....	705	Janowski Tomasz .....	171, 200
Hałoń Agnieszka.....	305, 308, 322, 359	Janus Izabela.....	284, 311, 374
Hamala Aleksander .....	265, 266	Jańczak Dawid.....	651
Hauser Willy .....	597	Jarosz Łukasz .....	134, 135, 136, 139, 212, 455, 456, 457, 458, 459, 656, 684
Henklewski Radomir .....	130, 133, 144, 157, 163, 166, 167, 174	Jaroszewski Jerzy Jan.....	81, 92, 91, 99, 101, 116, 117, 119
Herosimczyk Agnieszka .....	187, 188	Jasiecka Agnieszka.....	81, 91, 92, 116, 117, 119
Hildebrand Wojciech .....	104, 279, 308, 309	Jasiński Tomasz.....	213, 580, 581
Hola Piotr .....	241	Jaskólska Marta.....	138, 373
Hołderna-Kędzia Elżbieta .....	93	Jaśkowski Jędrzej Maria .....	207, 208, 210, 214, 218, 242, 369, 453
Houszka Marek.....	424, 649, 650, 677	Jawor Paulina .....	184, 191, 194, 215
Hubert Ziółkowski .....	92	Jaworska-Parzeniecka Marta.....	376
Hukowska-Szematowicz Beata .....	640	Jedziniak Piotr .....	121
Humelt Katarzyna .....	134, 135, 136	Jewgenow Katarina.....	335
Iakubchak Olga.....	506, 511	Jeziński Tadeusz.....	27
Iwan Ewelina .....	636, 637	Jędrus Aleksander.....	90
Iwaniak Wojciech .....	513, 541, 542, 543, 603	Jędrzej Jaśkowski M.....	452
Iwańczuk-Czernik Krystyna .....	60	Jodkowska Katarzyna.....	391
Iwaszko-Simonik Alicja.....	137, 168, 189, 424, 468, 469	Jolanta Bujok .....	294, 597
Jabłoński Artur .....	107	Jurka Piotr .....	312, 313, 356, 357, 365, 377
Jackowska Marta.....	242, 369, 452, 453	Jursza Ewelina .....	314, 387
Jackowska-Tracz Agnieszka .....	540	Kaba Jarosław .....	255
Jackulak Natalia .....	162	Kaczmarowski Michał.....	216, 217
Jacukowicz Anna .....	398, 409	Kafarski Paweł.....	256
Jakimiuk Ewa .....	475, 478, 496		
Jakubczak Anna .....	610		



Kaleczyc Jerzy .....	614, 619, 631	Klimowicz Agnieszka.....	574
Kalicki Mirosław.....	685	Kluszcz Jakub .....	653
Kalinowski Marcin .....	139, 212, 455, 456, 457, 458, 459, 656	Kluciński Włodzimierz.....	213, 581
Kamińska Katarzyna .....	99	Kłos Zdzisław .....	126, 159
Kamola Dariusz .....	622, 652	Kmiecik Mirosława .....	54, 55, 655
Kandfer-Gola Małgorzata.....	298, 301, 315, 328	Kochan Joanna.....	149
Kander Małgorzata.....	339	Kociucka Beata .....	208
Kania Bogdan Feliks.....	244	Kolenda Rafał.....	650
Kapica Małgorzata.....	630, 639	Kołacz Roman.....	36, 38, 42, 55, 489, 667
Karlik Wojciech .....	82	Kołodziejska Anna .....	676
Kazuń Barbara .....	711, 712	Kołodziejska-Sawerska Anna.....	380, 648, 657
Kazuń Krzysztof.....	710, 711, 712	Komornicki Julian .....	625
Keller Marek.....	411	Komorowska Małgorzata.....	294
Kempisty Bartosz.....	369, 453	Komsta Renata .....	285
Kędrak-Jabłońska Agnieszka .....	507, 514, 515	Koncicki Andrzej.....	400, 427, 428, 432
Kędzia Anna.....	93	Kondracki Stanisław.....	460
Kędzia Bogdan .....	90, 93	Kopeć Wiesław.....	191
Kędzińska Anna.....	620	Korzekwa Anna .....	257, 270
Kędziński Witold.....	140	Korzekwa Karol .....	270
Khomych Volodymyr.....	516	Kos Katarzyna .....	574
Kibiłda Bogdan .....	619	Kosińska Hanna.....	327, 622
Kiczak Liliana.....	316, 464	Kosior-Korzecka Urszula.....	176, 258
Kielbowicz Maciej .....	256, 317, 318, 343, 351, 378	Kosmalska Maria .....	453
Kielbowicz Zdzisław .....	229, 256, 317, 318, 343, 370, 378, 658	Kossakowski Kamil .....	218
Kiljanek Tomasz.....	46, 47	Kostecki Marian.....	483
Kinal Stefania .....	250	Kostrzewa Piotr .....	533
Kinda Wojciech.....	358	Kościółek Natalia.....	289, 290, 658
Kita Jerzy.....	267, 681, 688	Kotowicz-Szatkowska Urszula.....	319, 392
Kita Paweł.....	346	Kowalczyk Andrzej .....	439
Kizerwetter-Świda Magdalena.....	599, 692	Kowalczyk Elżbieta.....	675
Kleczkowski Mirosław .....	213, 259, 580, 581	Kowalczyk Ewelina.....	487, 491, 492
Klećkowska-Nawrot Joanna.....	582, 583, 584, 621	Kowalczyk Wojciech .....	286, 287
Klimczuk Magdalena .....	619	Kowalczyk-Zięba Ilona.....	251, 273
Klimecki Maciej.....	649	Kowalewski Mariusz P. ....	387
Klimek Kamila .....	32	Kowalski Cezary .....	83, 96, 115, 419
Klimiuk Paweł.....	293, 379	Kowalski Zygmunt Maciej.....	201, 215
Klimont Michał.....	274	Kozak Beata.....	480
		Kozdrowski Roland.....	165, 261
		Kozdruń Wojciech.....	414
		Kozińska Alicja .....	699, 702



Kozioł Emilia Anna.....	91	Kurtasov Georgij.....	191
Koziorowska-Gilun Magdalena.....	337	Kuryszko Jan .....	256
Krajewska Monika.....	517, 518, 521, 522, 600, 659, 664, 698	Kusy Roland .....	161
Krakowski Leszek.....	169, 176, 274	Kuta Aleksandra .....	220
Krasucka Dorota.....	574	Kuźmak Jacek.....	226, 228, 263, 264, 346, 636, 637
Krawiec Marta.....	416, 417	Kwiatek Krzysztof.....	212, 477, 480, 482, 486, 490, 491, 492, 559, 502
Król Dawid .....	650	Kwiatkowska Miłoslawa .....	342
Król Jarosław .....	601, 616, 623, 677	Kwiatkowska-Stenzel Agnieszka.....	52, 61, 153
Król Magdalena .....	329, 546	Kwit Ewa .....	505, 661, 684
Krukowski Henryk.....	43, 48	Lachowicz Jacek.....	341, 662
Krumrych Wiesław.....	132, 141, 142, 160, 164, 216, 219, 225, 236	Larska Magdalena.....	220, 221, 222, 223, 260
Krupa Adriana .....	104, 279, 309	Lassa Henryka.....	247
Krupa Marek.....	507	Lebioda Arleta.....	675
Krupa Paweł .....	519, 531	Lechowski Jerzy .....	59
Krupski Witold .....	430	Lechowski Roman .....	280
Krystkiewicz Wioletta.....	238, 320, 324	Ledwoń Aleksandra .....	411, 418
Krzosek Łukasz.....	35	Legień Małgorzata .....	351, 663
Krzyżewska-Młodawska Alicja.....	321	Lepa Agnieszka .....	710, 711
Krzyżewski Waldemar .....	587	Lepczyński Adam .....	187, 188
Kubiak Joanna.....	219	Levchenko Volodimir .....	237
Kubiak Krzysztof .....	227, 305, 306, 307, 308, 310, 322, 359	Lew Marcin.....	381
Kucharczak Ewa.....	94	Lew Sylwia .....	238, 381
Kuczaj Marian .....	231	Lew-Kojrys Sylwia.....	320, 324, 325, 336
Kuczkowski Maciej.....	206, 396, 406, 416, 417, 433	Lewczuk Bogdan.....	425, 434, 488, 493
Kuduk-Jaworska Janina .....	112	Libudzisz Zdzisława .....	494
Kudyba Emilian .....	580	Liedtke Katarzyna.....	520, 538, 544, 552
Kujawa Krzysztof.....	621	Lipczyńska Karolina.....	326, 595, 596, 607, 608, 609, 678, 679
Kuk Sabina.....	610	Lipiec Marek.....	517, 518, 521, 522, 600, 659, 664, 698
Kukier Elżbieta.....	477, 559	Lipińska Eliza .....	466
Kukier Ewa .....	212	Lipowski Andrzej .....	440
Kuligowska Izabela.....	660, 662	Lis Łukasz Bartłomiej.....	497
Kupczyńska Marta.....	286, 287, 367, 391, 610, 611, 651, 680	Lis Magdalena .....	112, 120
Kupczyński Robert .....	41, 42, 670	Lis Marcin.....	39, 56
Kurek Łukasz.....	259	Lisowska Anna.....	398, 409, 410
Kurosad Agnieszka.....	323	Lisowski Andrzej.....	43
Kursa Olimpia.....	431	Liwocha Emilia .....	610
		Löchelt Martin .....	346



Lorenc Jan.....	361	Mateja Radosław.....	649
Ludwikowska Agnieszka .....	39, 95	Matejkowski Bartosz .....	367
Lutnicka Hanna .....	39, 95	Materniak Magdalena .....	226, 346, 637
Lutnicki Krzysztof .....	170, 259, 576, 577, 580, 581, 161	Matras Marek .....	697, 700, 709
Łebkowska-Wieruszewska Beata.....	96, 419	Matyjaszczyk Monika .....	33
Łopatek Magdalena .....	523, 532, 537	Matysek Małgorzata .....	461
Łopucki Rafał .....	611	Max Andrzej.....	321, 330, 331, 332, 333, 625
Łopuszyński Wojciech .....	291, 293, 363, 379	Mazur Małgorzata .....	482
Łosiewicz Katarzyna .....	484	Mazurkevych Tetiana.....	516
Łój Magdalena .....	327, 376, 622	Mazurkiewicz Michał.....	403
Łuczak Grzegorz.....	189, 190, 468, 469	Mączyński Marcin .....	89
Łukasiewicz Monika.....	435	Mee John F.....	181
Łuszczewska-Sierakowska Iwona .....	461	Metges Cornelia C.....	183
Łysiak Ewa .....	574	Michalak Izabela.....	143
Maciołek Henryk.....	44, 224, 588, 589	Michalczuk Monika .....	53
Maćkowiak-Dryka Monika.....	555, 560	Michalczyk Maria.....	666
Madany Jacek .....	382	Michalski Mirosław Mariusz .....	325, 334, 523, 528, 529, 657
Madej Jan Paweł.....	328	Michałek Katarzyna .....	187, 188
Madej Janusz Antoni.....	298, 301, 315, 328	Michlik Katarzyna .....	144
Maj Joanna.....	697, 700, 709	Miciński Jan.....	245, 246
Majchrzak Kinga.....	329	Mickiewicz Michał .....	185
Majer-Dziedzic Barbara.....	668, 684	Migowska-Calik Alicja .....	509, 527
Majewska Alicja.....	327	Mikołajczyk Szczepan.....	87, 102, 106
Maksymowych Igor.....	227, 237	Mikołajewska Natalia.....	335
Malicki Adam.....	508, 524, 525, 526	Mikulska-Skupień Elżbieta.....	320, 324, 325, 326, 336, 467
Malinowski Edward ...	131, 142, 160, 217, 225, 248	Mila Hanna.....	337
Maluta Aleksandra .....	665, 686	Milczak Andrzej .....	385
Małaczewska Joanna .....	97, 98, 245, 246, 624, 701	Miller Julia.....	383
Małagocki Paweł.....	87	Minta Maria .....	110, 481
Małkińska-Horodyska Magdalena .....	219	Minta Zenon .....	398, 409, 410, 422, 423, 431
Marchewka Joanna.....	28	Misiukiewicz-Poć Magdalena.....	496
Marek Agnieszka .....	426	Mitrowska Kamila .....	108
Markiewicz Hanna .....	211, 217, 225, 247	Mituniewicz Edyta .....	62
Markiewicz Włodzimierz.....	81, 91, 99, 119	Mituniewicz Tomasz.....	45, 52, 60, 61, 62
Markowska-Daniel Iwona .....	441	Młodawski Wojciech.....	402
Marycz Krzysztof.....	143, 384	Młynarczyk Jarosław .....	496
Maszewski Sebastian.....	87, 100, 102, 106, 113	Młynarczyk-Bednarko Elżbieta .....	544
Maślak Robert.....	674	Modzelewska Patrycja.....	706
Maślanka Tomasz .....	81, 99, 101, 117, 119		





Moneta Jadwiga .....	494	Nowakowicz-Dębek Bożena .....	48, 58
Monowid Tomasz .....	348	Nowakowski Zygmunt .....	561
Motyl Tomasz.....	249, 252, 268, 269, 329, 604	Nowicka Dorota.....	255
Mrowiec Jacek.....	203, 253, 261, 275	Nowicki Marcin .....	339
Mróz Iwona .....	611	Nowicki Marek.....	579, 585
Mróz Magdalena.....	476, 496	Nowicki Mariusz.....	255
Mucha Joanna .....	329	Nowicki Tadeusz.....	275
Müller Jessica M. ....	125	Obmińska-Mrukowicz Bożena.....	89, 105, 112
Müller Karin.....	335	Obremski Kazimierz .....	478, 483, 485, 496
Myer Uwe Mario.....	48	Ochota Małgorzata .....	340
Nabzdyk Maria .....	208	Ocioń Ewa .....	471, 627
Nawrocka Agnieszka.....	54, 55, 655	Oedenberg Henryk Geringer de.....	150
Nerc Joanna .....	420	Ohnesorge Bernhard.....	127
Nicpoń Jakub .....	143, 177, 350, 384, 489, 667	Okólski Adam .....	129, 149, 158
Nicpoń Józef.....	145, 146, 147, 148, 177, 227, 295, 296, 303, 304, 309, 310, 322, 323, 354, 359, 370, 371, 372, 386, 454, 462, 464, 489, 667, 675, 677, 682	Olbrych Katarzyna .....	628
Niczny Paweł .....	666	Olech Monika .....	228, 263, 264
Niczyporuk Jowita Samanta.....	414, 421	Olszewska Monika .....	422
Niedziela Dorota.....	430	Opaliński Sebastian.....	55, 412, 413, 525, 526
Niedziółka Jerzy.....	39, 50, 56	Oprządek Jolanta .....	252, 268, 269
Niedźwiedzka-Rystwej Paulina.....	640	Orda Janusz .....	250
Niedźwiedź Artur .....	145, 146, 147, 148, 177	Orłowska A.....	629, 687
Niemczuk Krzysztof.....	69, 271, 442	Orłowska Blanka .....	611, 688
Niemiałtowski Marek.....	602, 635	Orzelski Maciej .....	352, 385
Nieradka Renata .....	339	Osek Jacek.....	523, 532, 537
Niewiadowska Alicja.....	46, 47, 496	Osińska Barbara.....	341, 662
Niewitecki Wiesław .....	225	Osiński Bogdan.....	350
Nitek Stanisław .....	625	Osiński Zbigniew.....	263, 487
Nizański Wojciech .....	281, 300, 335, 337, 340, 360, 361, 450	Ostrowska Justyna .....	358
Nolte Ingo.....	22	Ostrowska Monika .....	534
Noszczyk-Nowak Agnieszka.....	282, 297, 338, 362, 462	Otrocka-Domagala Iwona.....	302, 342, 344, 368
Nowaczyk Renata .....	582, 583, 584, 590	Ożgo Małgorzata .....	187, 188
Nowak Agnieszka .....	149	Pacoń Jarosław .....	669, 677
Nowak Grzegorz .....	262	Paczuska Joanna .....	318, 343, 351
Nowak Marcin .....	166, 298, 301, 315, 328, 343	Paluszak Zbigniew.....	49
Nowakiewicz Aneta.....	626, 643, 668	Paprocka Ilona .....	486
		Partyka Agnieszka .....	337, 340, 450
		Parzeniecka-Jaworska Marta.....	327
		Pasicka Edyta .....	150
		Paśawska Urszula.....	144, 282, 297, 316, 338, 362, 462, 463, 464



Pasławski Robert.....	464	Pluta Aneta.....	264, 346
Pastuszczak-Frąk Marta.....	530, 545	Pławińska Joanna.....	546
Pasziewicz Waldemar .....	562, 563	Płoneczka-Janeczko Katarzyna.....	231, 266, 267, 288
Patkowska-Sokoła Bożena.....	37	Płoszay Gabor .....	151
Patyra Ewelina.....	490	Podgórska Katarzyna .....	443, 447
Paweł Szaro.....	330, 331, 332, 333	Podkowiak Magdalena.....	345, 519, 531
Pawlak Aleksandra .....	89, 103, 104, 105, 120	Podlasz Piotr .....	478, 484
Pawlak Krzysztof .....	50, 56	Pogoda-Sewerniak Krystyna.....	41, 42
Pawliński Bartosz.....	465	Polak Mirosław Paweł.....	69, 220, 221, 222, 223, 260
Pawłowski Bartłomiej .....	48	Polkowska Izabela.....	347
Pawłowski Karol Marcin.....	329, 435	Polonis Antoni .....	58, 59
Paździor Ewa.....	699, 702, 703	Połozowski Andrzej .....	654
Paździor Katarzyna .....	171, 302, 342, 344, 368	Pomianowski Andrzej.....	152, 342, 348
Pecio Anna .....	95	Pomianowski Janusz F.....	61
Pecka Ewa .....	412, 413	Pomorska Agnieszka.....	170
Pejsak Zygmunt .....	447	Pomorska-Mól Małgorzata.....	444, 470
Pełka Grzegorz.....	654	Pomykała Remigiusz.....	523, 532
Perkowska Karolina.....	466	Ponikowski Piotr .....	464
Pestka Daria .....	427	Popiel Jarosław .....	295, 296, 297, 354, 386
Petryński Wojciech.....	425, 434	Porowski Marian .....	445
Pękala Agnieszka .....	699, 702, 703	Porowski Mateusz.....	445
Pęzińska Katarzyna .....	610	Porowski Michał.....	445
Piasecki Tomasz.....	649, 650, 670, 674, 689	Pospieszny Norbert .....	573
Piątek Anita.....	229, 256, 289, 290	Posyniak Andrzej .....	107, 108, 118, 121, 175
Piech Tomasz .....	230, 243, 272, 451	Poźniak Błażej.....	103, 104, 105, 120
Piedra Jose Luis Valverde .....	192, 193, 639, 638	Praisnar Katarzyna .....	471
Piekarska Jolanta.....	231, 345	Preś Jerzy .....	250
Piełudź Danuta .....	466	Procajło Anita .....	153, 196, 234, 349
Pierzchała-Koziec Krystyna .....	471, 627	Procajło Zbigniew .....	232, 467
Pikuła Anna.....	409, 423	Prostek Adam.....	622
Pinkowska Anna.....	165	Próchniak Marek .....	535
Piotrowska Joanna.....	45, 61	Prusik Magdalena.....	425, 488, 493
Piotrowska Małgorzata .....	479	Prządka Przemysław .....	350, 384
Piskorska-Pliszczyńska Jadwiga .....	84, 87, 100, 102, 106, 109, 113	Przeniosło-Siwczyńska Monika...480, 490, 491, 492	
Platt-Samoraj Aleksandra.....	446, 466, 467, 595, 596, 607, 608, 609	Przybylska-Gornowicz Barbara.....	425, 488, 493
Plewako Paulina.....	671, 690, 693	Przychodzeń Karolina.....	117
Pliszcak-Król Aleksandra .....	137, 168, 189, 424, 468, 469	Puchalski Andrzej .....	233, 241, 613
		Puzio Iwona.....	630, 639



Pyz-Łukasik Renata.....	562, 564	Sacharczuk M.....	313
Pyziel Anna Maria.....	662, 672	Sadkowski Tomasz.....	252, 268, 269, 604
Pyzik Ewelina.....	426	Salwa Andrzej.....	647, 688
Rachubik Jarosław.....	106, 109	Sambor Izabela.....	316, 328
Radko Lidia.....	110, 481	Samorek-Salamonowicz Elżbieta.....	401, 421, 429
Radkowski Mieczysław.....	548, 549, 550, 551	Samul Mateusz.....	399
Radwańska Paulina.....	258	Sandomierska Agnieszka.....	700, 709
Radwińska Justyna.....	154, 196, 234, 238, 349	Sapierzyński Rafał.....	299, 353
Radzki Radosław P.....	630	Sapikowski Grzegorz.....	288, 354, 386
Rak Lech.....	565, 566	Sawicka Anna.....	431
Rapacz-Leonard Anna.....	171	Sechman Andrzej.....	50
Raposo Mariana.....	251	Sell Bartosz.....	121
Raś Andrzej.....	128, 155, 156, 165, 171	Semeniuk Stanisław.....	46, 47
Raś-Noryńska Małgorzata.....	172	Sergiel Agnieszka.....	674
Ratajczak Kornel.....	157, 174, 351, 606, 663	Siemieniuch Marta J.....	314, 387
Rąpała Łukasz.....	641, 642	Siemionek Jan.....	155, 156, 466, 671, 673, 678, 679, 693
Reksa Monika.....	507	Sienkiewicz Waldemar.....	614, 619, 631
Rękawek Wojciech.....	196, 202, 238	Sieradzki Zbigniew.....	482
Riitho Victor.....	222	Silmanowicz Piotr.....	285, 385
Rijsselaere Tom.....	283	Simon Graham.....	222
Robak Stanisław.....	707	Sitnik Ondrasz.....	184, 191
Rokicki Jerzy.....	633, 634	Siudut Jakub.....	627
Rola Jerzy.....	69, 151, 173, 235, 239, 240	Siwicki Andrzej Krzysztof.....	97, 98, 245, 246, 624, 701, 705, 706, 707, 708, 710, 711, 712
Rola Jolanta G.....	533, 534, 535, 536	Skarżyński Dariusz Jan.....	251, 257, 270, 273, 314, 387
Rola-Łuszczak Marzena.....	264, 636	Skiba Teresa.....	191
Roliński Zbigniew.....	115, 557	Skibniewska Krystyna.....	705
Rosenbeiger Paweł.....	430	Skibniewski Michał.....	625
Rotkiewicz Tadeusz.....	171, 302, 342, 344, 368	Skowron Karolina Jadwiga.....	49
Rouibah Kamal.....	424	Skowron Krzysztof.....	49
Rowicka Agnieszka.....	32, 33	Skórzewski Radosław.....	141, 236
Różańska Dorota.....	352, 385	Skrzypczak Piotr.....	350, 378, 462
Różański Paweł.....	51	Skrzypczak Wiesław F.....	187, 188
Rumińska Ewa.....	61, 62, 691	Skrzypek Greta.....	561
Rusiecka Agnieszka.....	294, 597	Skrzypek Henryk.....	192, 193
Rybińska Ilona.....	316	Skrzypek Tomasz.....	185, 192, 193
Rychlik Andrzej.....	302, 339, 380, 657	Slivinska Luba.....	237
Ryng Stanisław.....	89	Sławuta Piotr.....	306, 307, 355, 489, 667
Rypuła Krzysztof.....	265, 266, 267, 288, 354		
Rząsa Anna.....	184, 189, 190, 468, 469		
Rzewuska Magdalena.....	357, 599, 651, 652, 692		



Słoniewski Krzysztof.....	215, 546	Strawa Krzysztof.....	568
Słońska Anna .....	612, 618, 632	Struzik Justyna .....	602, 635
Słowik-Orzelska Małgorzata.....	385	Strzeżek Rafał.....	337
Smreczak M.....	629, 687	Strzyżewska Emilia.....	705
Smulski Sebastian .....	216, 217	Studziński Tadeusz .....	430
Snarska Anna .....	154, 234, 238, 320, 324	Stypuła-Trębas Sylwia .....	110, 481
Sobczak Jerzy .....	45	Sucholiński Michał.....	189
Sobczak-Filipiak Małgorzata ....	313, 356, 357, 653	Suder Marek .....	294
Sobczyńska-Rak Aleksandra.....	291, 347, 385	Suszek Agnieszka .....	105, 112, 120
Sobiech Przemysław.....	153, 196, 202	Syczyło Kinga.....	467
Socha Barbara .....	270	Sysa Paweł.....	641, 642
Socha Piotr .....	607	Szabłoński Lesław .....	70
Socha Wojciech.....	173, 239, 240	Szał Bartłomiej.....	330, 331, 332, 333
Sokołowska Justyna.....	641, 642	Szaluś-Jordanow Olga.....	255
Sokół Rajmund .....	172, 334, 657, 666	Szara Tomasz.....	53, 175, 628
Sołtysiak Zenon .....	194, 388, 633, 634, 674, 675, 682, 689	Szarek Józef.....	648, 676, 705
Sondej Krzysztof.....	211	Szczawińska Anna .....	507
Sosnowski Maciej .....	536	Szczawińska Małgorzata .....	567
Sowa Joanna .....	358, 649	Szczawiński Jacek .....	503, 567
Sowińska Janina.....	45, 52, 60, 61, 62	Szczerba-Turek Anna.....	155, 156, 467, 595, 596, 607, 608, 609, 678, 679, 693
Spodniewska Anna.....	86, 111	Szczerbal Izabela.....	208
Spuzak Jolanta .....	227, 305, 306, 307, 308, 310, 322, 359	Szczotka Anna.....	447
Stachnik Magdalena.....	697, 704, 709, 713	Szczotka Maria.....	636, 637
Stachura Rafał .....	241	Szczubiał Marek.....	293, 363
Stadejek Tomasz .....	447	Szczucińska Ewa .....	707
Stanicka Ewelina.....	669	Szczypka Marianna .....	112
Stańczyk Ewa.....	300, 360, 361	Szeleszczuk Piotr .....	397, 402, 407, 408, 411, 418, 420, 435
Starczewska Aneta.....	311, 374	Szewczyk Renata.....	537
Staroniewicz Zdzisław .....	162, 165, 601, 616, 623	Szkoda Józef .....	54, 55, 655
Stasiak Andrzej .....	59	Szkucik Krzysztof .....	504, 563, 564, 568, 569
Staszczuk Maciej .....	297, 338, 362, 464	Szmańko Tadeusz .....	508
Stefan Pierzynowski .....	638	Szmelter Izabela .....	45
Stefaniak Tadeusz .....	184, 191, 194, 215, 316	Szmidt Maciej .....	641, 642
Stelmach Szczepan .....	367	Szmigielska Marta.....	130, 133, 144, 157, 163, 166, 167, 174
Stenzel Tomasz.....	400, 427, 428, 432, 595	Szopa-Skórkowski Jan.....	450
Sterna Jacek .....	366	Szóstek Anna Z. ....	387
Stopa Ewa .....	475, 476	Szpak Maciej .....	524, 525, 526
Stopyra Artur .....	153, 154, 202, 234, 238, 349		



Szpetnar Maria.....	292	Tombarkiewicz Barbara.....	50, 56
Szponder Tomasz.....	347	Tomczyk Grzegorz .....	431
Szprengier-Juszkiewicz Teresa.....	85	Torres Ana Catarina.....	251
Szteyn Joanna.....	520, 538, 544, 552	Tracz Michał.....	540
Szuba Andrzej.....	464	Trawińska Beata.....	48, 58, 59
Szulc Lidia .....	602, 635	Trębacz Piotr .....	365, 366
Szulowski Krzysztof .....	513, 541, 542, 543, 603	Trębas Paweł.....	629, 687
Szweda Magdalena .....	648, 657, 676, 705	Tropiło Jan .....	578, 591
Szweda Wojciech .....	155, 156, 232, 326, 448, 466, 467, 595, 596, 607, 608, 609, 673, 679	Trzeciak Piotr.....	641, 642
Szwiec Katarzyna.....	638	Trzeciak-Ryczek Alicja.....	640
Szymańczyk Sylwia E. ....	639	Tubek Barbara.....	105, 524
Szymańska-Czerwińska Monika .....	271	Tucholska Anna .....	612, 618, 632
Szymański Piotr .....	677	Turek Bernard .....	53, 159, 175
Szymczak Wiktor.....	189	Turski Andrzej .....	624
Szynaka Beata .....	705	Turski Waldemar .....	97
Szyszkowska Anna .....	347	Twardoń Jan .....	201, 203, 250, 253, 261, 275, 300, 360, 361
Śliwa Ewa.....	461	Tykałowski Bartłomiej.....	400, 427, 428, 432
Śliwka Natalia.....	117	Tymczyzna Leszek.....	35
Ślizewska Katarzyna.....	479, 494	Ugorski Maciej.....	620
Śmiałek Marcin.....	400, 427, 428, 432	Uradziński Jan.....	509, 510, 527, 530, 545
Śmiech Anna.....	656	Urban-Chmiel Renata.....	233, 241, 613
Śmietanka Krzysztof .....	422, 423	Urbaniak Krzysztof .....	242
Śniegocki Tomasz .....	108, 121	Urbańska Kaja.....	641, 642
Świątalska Agnieszka .....	364, 389	Usenko Svitlana .....	516
Świątek Anna .....	158	Uttenthal Åsse.....	223, 260
Świeboda Paulina.....	638	Vlizlo Vasył.....	227
Światała Marcin .....	18, 120	Wajler Cezary.....	175
Świtoński Marek .....	208	Walkosz Michał .....	649
Tarasiuk Karolina .....	401, 414, 429	Wałęcka Ewa .....	316
Tarasiuk Kazimierz.....	449	Wąkuska Grażyna.....	88
Taszkun Iwona .....	390	Warenik-Bany Małgorzata .....	87, 102, 106, 113
Tatara Marcin R. ....	292, 430, 461	Waśkiewicz Agnieszka .....	483
Terech-Majewska Elżbieta.....	706, 707, 708, 710, 711, 712	Wawro Magdalena.....	673, 678, 679, 693
Tkachuk Svetlana A.Limivna.....	539	Wawron Władysław .....	204, 230, 243, 272
Tokarz-Deptuła Beata .....	640	Wawrzeńczyk Czesław .....	105, 524
Tokarzewski Stanisław .....	613	Wawrzyniak-Gacek Agata .....	461
Tomas Roman .....	106	Wąchocka Agata .....	169
Tomaszek Alicja.....	316	Wąsowicz Krzysztof .....	484
		Wąsowicz Michał.....	286, 287, 367, 391, 611, 680





Wdowiak Michał.....	339	Woźniak Anna .....	417, 433
Weiner Anna .....	486	Woźniak Barbara .....	481
Weiner Marcin .....	513, 541, 542, 543, 603	Woźniak Tadeusz.....	71
Welz Mirosław .....	681, 688, 692	Woźniakowski Grzegorz....	401, 414, 415, 421, 429
Wereszczyńska Magdalena.....	231, 345, 674, 682, 689	Woźny Maciej.....	478
Wernicki Andrzej .....	233, 241, 613	Wójcik Agnieszka .....	683
Wessely-Szponder Joanna .....	176	Wójcik Andrzej.....	275
Wicik Zofia.....	269, 604	Wójcik Anna .....	45, 52, 60, 61, 62
Wieczorek Kinga .....	523, 532, 537	Wójcik Marta .....	564, 605
Wielgosz Małgorzata.....	244	Wójcik Roman .....	97, 98, 245, 246, 624, 701
Wielich Tomasz.....	70	Wrona Zygmunt.....	274, 451
Wieliczko Alina .....	206, 396, 405, 406, 416, 417, 433	Wrońska Danuta.....	195
Wieteska Michał.....	152	Wrzosek Marcin.....	177, 303, 304, 370, 371, 372, 378
Wilczak Jacek .....	622, 652	Wyłupek Dagmara.....	392
Winnicka Anna.....	478	Wypchło-Pomorski Sławomir.....	72
Wiszniewska-Łaszczych Agnieszka .....	520, 538, 544, 552	Wyrostek Krzysztof .....	422
Wiśniewska Marzena .....	302, 342, 344, 368	Wysok Beata.....	530, 545
Wiśniewski Jan.....	579, 585	Yi Jine .....	120
Witkiewicz Wojciech.....	454, 597	Zabielski Romuald.....	185, 192, 193, 465
Witkowska Dorota .....	45, 52, 60, 61	Zabłocka Magdalena.....	37
Witkowska Katarzyna .....	258	Zabost Anna.....	698
Witkowska Zuzanna.....	412, 413	Zacharski Maciej.....	316
Witkowski Lucjan.....	255, 692	Zakrzewski Janusz .....	705
Witt Katarzyna.....	402	Zaleska Isaura .....	606
Wittek Thomas.....	205	Zaleska Magdalena.....	681, 688
Wlekliński Edmund .....	650	Zalewski Konrad.....	275
Włodarek Jan .....	207, 214, 218, 242	Zalewski Wojciech.....	275
Woch Piotr .....	43	Zań Rafał .....	115
Wocławek-Potocka Izabela.....	251, 273	Zarzyńska Joanna .....	546
Wojciech Kozdruń.....	415	Zastempowska Ewa .....	247
Wojciechowski Monika.....	114	Zawadzka Joanna.....	62
Wojtyś-Gajda Milena .....	653	Zawadzki Wojciech .....	294, 412, 413, 597
Wolska-Szabała Iwona .....	114	Zbigniew Nozdryn-Płotnicki.....	379
Wolski Dariusz.....	33	Zbylut Janusz.....	142, 160, 236, 248
Wołowicz Maciej .....	704, 713	Zdanowicz Magda .....	116
Woźna Magdalena .....	242, 369, 452, 453	Zdrodowska Barbara.....	548, 549, 550, 551
Woźniak Aneta .....	574	Zegiel Monika .....	276
		Zembrzuska Monika .....	707
		Zhalniarovich Yauheni.....	138, 373



Zieliński Andrzej.....	267
Zielniok Katarzyna.....	249
Zielonka Łukasz.....	475, 478, 479, 485
Zięba Filip.....	649
Zięba Przemysław.....	668
Ziomek Monika.....	569
Ziółkowska Aleksandra.....	92
Ziółkowska Grażyna.....	626, 643, 668
Ziółkowska Natalia.....	425, 434, 488, 493
Ziółkowski Hubert.....	81, 91, 116, 117, 119
Złotnicka Jolanta.....	513, 543
Zubel Joanna.....	471, 627
Związek Janusz.....	29, 78
Zwierzchowski Grzegorz.....	245, 246
Zwierzchowski Wojciech.....	485
Zwijacz Tadeusz.....	649
Zyzak Artur.....	189, 190, 468, 469
Źródłowska-Danek Jolanta.....	524, 525, 526
Żakowska Zofia.....	479
Żarczyńska Katarzyna.....	154, 196, 202, 234, 349
Żbikowski Artur.....	435
Żelazny Jan.....	714
Żmigrodzka Magdalena.....	478
Żmudziński Jan Franciszek.....	173, 221, 235, 260, 629, 687
Żmudzki Jacek.....	445, 447
Żmudzki Jan.....	46, 47, 54, 55, 107, 108, 110, 121, 481, 655
Żuraw Aleksandra.....	214, 369, 453
Żurek Urszula.....	178
Żylińska Beata.....	352



## **SYSTEM RENINA-ANGIOTENSYNA-ALDOSTERON ORAZ NIEWYDOLNOŚĆ KORY NADNERCZY U ŻREBIĄT Z SEPSĄ**

## **RENIN-ANGIOTENSIN-ALDOSTERONE SYSTEM AND RELATIVE ADRENAL INSUFFICIENCY IN SEPTIC FOALS**

**Katarzyna A. Dembek<sup>1</sup>, Samuel D. Hurcombe<sup>1</sup>, Nathaniel M. Solvis<sup>2</sup>, Bonnie Barr<sup>3</sup>,  
Ramiro E. Toribio<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>The Ohio State University, College of Veterinary Medicine, Columbus, OH, USA, dembek.2@osu.edu

<sup>2</sup>Hagyard Equine Medical Institute, Lexington, KY, USA,

<sup>3</sup>Rood and Riddle Equine Hospital, Lexington, KY, USA

Sepsa (zespół ogólnoustrojowej reakcji zapalnej z bakteriami) jest jedną z najczęstszych przyczyn śmierci u nowo narodzonych źrebiąt. Zaburzenia funkcji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza oraz względna niewydolność kory nadnerczy (*relative adrenal insufficiency*) należą do częstych powikłań sepsy u źrebiąt. Oś podwzgórze-przysadka-nadnercza (oś PPN) i system renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) są odrębnymi mechanizmami, które ściśle współdziałają u pacjentów w ciężkich stanach chorobowych. Stymulacja osi PPN i RAA oraz niewydolność kory nadnerczy towarzyszą dzieciom i dorosłym pacjentom w stanach krytycznych. Informacje na ten temat są ograniczone do kilku publikacji u źrebiąt-noworodków.

**Cel badań:** Analiza stymulacji i funkcji osi PPN oraz RAA u: źrebiąt z sepsą, źrebiąt zdiagnozowanych na choroby inne niż sepsa (np. kolki) oraz u zdrowych źrebiąt. Poziom hormonów osi PPN związanych funkcyjnie z RAA (takich jak ACTH i kortyzol) oraz renina, angiotensyna II i aldosteron oznaczono w osoczu lub surowicy badanych źrebiąt.

**Materiał i metody:** Próbkę krwi pobrano od 167 źrebiąt przyjmowanych do kliniki podczas badania wstępnego. Źrebięta zostały zakwalifikowane do trzech grup (zdrowe; n=34, chore na sepsę; n=74, zdiagnozowane na inne choroby; n=59) na podstawie objawów klinicznych, wyników posiewów krwi i skali prognozowania ryzyka sepsy (*sepsis score*). Poziom hormonów: hormon adrenokortykotropowy (ACTH); kortyzol; aldosteron; angiotensyna II oraz aktywność reninowa osocza określono za pomocą metody radioimmunologicznej (RAI-radioimmunoassay).

**Wyniki i omówienie:** Stężenie ACTH, aldosteronu, kortyzolu i angiotensyny było statystycznie wyższe u źrebiąt z sepsą w porównaniu ze zdrowymi ( $P<0.05$ ). Poziom kortyzolu był również wyższy u źrebiąt chorujących na choroby inne niż sepsa w stosunku do zdrowych źrebiąt ( $P<0.05$ ). Stosunek poziomu ACTH do kortyzolu (ACTH/kortyzol) oraz stosunek poziomu ACTH do aldosteronu (ACTH/aldosterone) były statystycznie wyższe u źrebiąt z sepsą w porównaniu ze zdrowymi ( $P<0.05$ ). Nie stwierdzono różnicy w aktywności reninowej osocza pomiędzy grupami źrebiąt. Hipochloremia u źrebiąt chorych na sepsę i inne choroby była skorelowana z hiperaldosteronizmem. Aktywacja RAA u źrebiąt w stanach krytycznych charakteryzuje się podwyższeniem stężenia angiotensyny i aldosteronu. Obserwowany wysoki stosunek ACTH/kortyzol i ACTH/aldosteron u źrebiąt z sepsą potwierdza występowanie relatywnej niewydolności kory nadnerczy zarówno w warstwie kłębkowatej, jak i pasmowatej. Zastosowanie terapii zastępczej w leczeniu niewydolności kory nadnerczy u źrebiąt wymaga dalszych badań.

### **Piśmiennictwo:**

- [1] Hart K.A., Solvis N.M. 2009. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis dysfunction in Hospitalized Neonatal Foals. J. Vet. Internal Med. 23, 901–912.
- [2] Hurcombe S.D.A., R.E. Toribio, N.Solvis, C.W. Kohn, K.Refsal, W.Saville and M.C. Mudge. 2008. Blood Arginine Vasopressin, Adrenocorticotropin Hormone, and Cortisol Concentrations at admission in septic and critically ill foals and their associations with survival. J. Vet. Internal Med. 22, 639–647.



## **ÓŚ PODWZGÓRZE-PRZYSADKA-NADNERCZA U ŻREBIĄT CHORYCH NA SEPSĘ** **HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENAL AXIS (HPAA) IN SEPTIC FOALS**

**Katarzyna A. Dembek<sup>1</sup>, Samuel D. Hurcombe<sup>1</sup>, Nathaniel M. Solvis<sup>2</sup>, Bonnie Barr<sup>3</sup>,  
Ramiro E. Toribio<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*The Ohio State University, College of Veterinary Medicine, Columbus, OH, USA, dembek.2@osu.edu*

<sup>2</sup>*Hagyard Equine Medical Institute, Lexington, KY, USA,*

<sup>3</sup>*Rood and Riddle Equine Hospital, Lexington, KY, USA*

Sepsa (posocznica) jest jedną z najczęstszych chorób diagnozowanych u nowo narodzonych źrebiąt. Rola osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (oś PPN) w odpowiedzi na stres związany z uogólnionym stanem zapalnym jest dobrze udokumentowana w neonatologii u ludzi i innych gatunków, natomiast informacje na temat endokrynologii u źrebiąt są ograniczone do niewielkiej liczby publikacji.

**Cel badań:** Analiza funkcji osi PPN w odpowiedzi na stres u: źrebiąt z sepsą, źrebiąt zdiagnozowanych na choroby inne niż sepsa (np. kolki) oraz u zdrowych źrebiąt. Poziom hormonów osi PPN takich jak kortykoliberyna (corticotropin releasing hormone – CRH), hormon adrenokortykotropowy (ACTH) kortyzol oraz wazopresyna (arginine vasopressin – AVP) oznaczono w osoczu lub surowicy badanych źrebiąt.

**Materiał i metody:** Próbkę krwi pobrano od 182 źrebiąt przyjmowanych do kliniki, podczas badania wstępnego. Źrebięta zostały zakwalifikowane do trzech grup (zdrowe; n=18, chore na sepsę; n=61, zdiagnozowane na inne choroby; n=103) na podstawie objawów klinicznych, wyników posiewów krwi i skali prognozowania ryzyka sepsy (sepsis score). Poziom hormonów: CRH, ACTH, kortyzol oraz AVP określono za pomocą metody radioimmunologicznej (RAI-radioimmunoassay).

**Wyniki i omówienie:** Stężenie ACTH, kortyzolu oraz AVP było statystycznie wyższe u źrebiąt z sepsą w porównaniu ze zdrowymi (P<0.05). Źrebięta z sepsą miały niższy poziom CRH we krwi w porównaniu ze zdrowymi (P<0.05). Źrebięta z sepsą, które nie przeżyły miały niższy poziom kortyzolu w stosunku do tych które przeżyły do momentu wypisania ze szpitala (P<0.05). Stosunek poziomu ACTH do kortyzolu (ACTH/kortyzol) oraz ACTH od AVP (AVP/kortyzol) były statystycznie wyższe u źrebiąt z sepsą (P<0.05).

W odpowiedzi na stres związany z sepsą dochodzi do aktywacji osi PPA, która charakteryzuje się wzrostem stężenia ACTH, AVP i kortyzolu z jednoczesnym obniżeniem poziomu CRH. CRH jest głównym hormonem stresu, którego poziom we krwi wzrasta proporcjonalnie do aktywacji osi PPN u ludzi oraz u innych gatunków. Niski poziom CRH u źrebiąt w stanach krytycznych jest niespodziewanym wynikiem. Badania przeprowadzone u dorosłych koni wykazały, że wydzielanie ACTH z przysadki jest stymulowane w większym stopniu przez AVP niż CRH. Powyższe wyniki potwierdzają tezę o nadrzędnej roli AVP w regulacji osi PPN w stosunku do CRH u krytycznie chorych źrebiąt.

### **Piśmiennictwo:**

- [1] Hart K.A., Solvis N.M., 2009. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal axis dysfunction in Hospitalized Neonatal Foals. *J. Vet. Internal Med.*, 23, 901–912.
- [2] Hurcombe S.D.A., Toribio R.E., Solvis N., Kohn C.W., Refsal K., Saville W., Mudge M.C., 2008. Blood Arginine Vasopressin, Adrenocorticotropin Hormone, and Cortisol Concentrations at admission in septic and critically ill foals and their associations with survival. *J. Vet. Internal Med.*, 22, 639–647.