

Kozanecki M., Kostrzyński S. — **Исследования по профилактике и борьбе с болезнями вымени у коров в индивидуальных хозяйствах**

Измеряли эффекты влияния программы борьбы с маститом в 184 хозяйствах (418 коров) на уровень заражения молочной железы коров. В течение 2 лет запуска коров под защитой антибиотиков и послеродовой дезинфекции сосков понизился процент коров и долей вымени, зараженных стрептококком безмолочности, расстройств лактации и вымени. Не получили удовлетворяющих результатов относительно инфекции стафилококком золотистым.

Kozanecki M., Kostrzyński S. — **Studies on prophylaxy and control of udder diseases in cows in individual farms**

The effect of a program of mastitis eradication in 184 farms (418 cows) on the level of infection of the udder in cows was evaluated. In the course of two years drying of cows under antibiotics and post-milking disinfection of teaths percentage of animals and quarters of udder infected by streptococci causing dysgalactia, disturbances in lactation and udder structure decreased. The method proved to be ineffective in eradication of Staph. aureus infections.

OD REDAKCJI:

W ramach serwisu informacyjnego **FELINFO**, poświęconego chorobom kotów, publikujemy piąty z kolei artykuł nadesłany przez prof. dr Mariana C. Horzinka z Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu w Utrechcie, Holandia.

Autorzy artykułu nt. zastosowania mikroskopii elektronowej w rozpoznawaniu zapalenia jelit kotów — W. Herbst i H. Krauss — są pracownikami Instytutu Higieny Zwierząt i Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu Justusa-Liebiga w Giessen, RFN.

W. HERBST, H. KRAUSS

Mikroskopia elektronowa w rozpoznawaniu zapalenia jelit kotów

Instytut Higieny Zwierząt i Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu Justusa — Liebiga w Giessen, RFN

Wirusowe zapalenie żołądka i jelit jest częstą przyczyną występowania zachorowań i zejść śmiertelnych zarówno u młodych zwierząt, przy czym szczególnie podatne są młode kocięta, jak i u małych dzieci (Banatvala 1979, Eugster i Sneed 1980). Badania pośmiertne przeprowadzone na 4561 kotach w okresie 1969—1982 wykazały, że u 16% przyczyną padnięć była panleukopenia, zaś u 5% zwierząt zapalenie żołądka i jelit. Obu postaciom choroby towarzyszyło zapalenie jelit (Lamdes i wsp. 1984). Wirus panleukopenii kotów stanowi najczęstszą przyczynę biegunki, stąd też tę jednostkę chorobową określano dawniej jako zakaźne zapalenie jelit kotów (Gillespie i Scott 1973). Ponadto, podobnie jak i u innych ssaków, niektóre inne wirusy są brane pod uwagę jako potencjalne czynniki biegunki i zapalenia jelit. Wykazano bowiem w treści jelit cienkich i kale kotów — przy użyciu mikroskopii elektronowej lub metody hodowlanej — obecność rotawirusów (Yasutaka i wsp. 1981, Snodgrass i wsp. 1979), koronawirusów (Pedersen i wsp. 1981), astrowirusów (Hoshino i wsp. 1981), reowirusów (Scott i wsp. 1979), herpeswirusów (Waber i Bestetti 1981) i cząstek zakaźnych podobnych do koronawirusów (Hoshino i Scott 1980).

Badania seroepizootologiczne (Snodgrass i wsp. 1979) dowiodły, że rotawirus jest patogeny dla kociąt i występuje powszechnie u kotów. Koronawirus, wywołujący zapalenie jelit u kotów, jest ściśle spokrewniony z wirusem zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów (FIP) i

może wywoływać ostre zapalenie jelit u zwierząt pozbawionych swoistych przeciwciał, nie powoduje on jednak FIP (Petersen i wsp. 1981). Zakażenie reowirusem objawia się jedynie zapaleniem spojówek i zwiększonym łzawieniem (Scott i wsp. 1979). Rola cząstek zakaźnych podobnych do koronawirusów, astro- i herpeswirusów jako czynników etiologicznych zapalenia jelit u kotów nie została w pełni udokumentowana.

W Instytucie Higieny Zwierząt i Chorób Zakaźnych w Giessen prowadzi się od kilku lat rutynowe badania kału i treści jelit kotów przy użyciu mikroskopu elektronowego. Na ogół niewiele jest danych na temat występowania wirusów w jelitach kotów z objawami zapalenia za wyjątkiem parwowirusów.

Prowadzone badania mają na celu wyjaśnienie roli wirusów w przypadku stanów zapalnych jelit u kotów.

Materiał i metody

Badaniom poddano 346 próbek kału i jelit pochodzących od kotów z objawami zapalenia jelit w okresie 1981—1985. Badania wykonano w mikroskopie elektronowym wg techniki opisaną przez Arensa i Kraussa (1980). Kał i błonę śluzową jelit, po homogenizacji z użyciem piasku kwarcowego, zawieszano w Podłożu Eagle'a MEM w celu otrzymania 10% (w/v) zawiesiny. Po wstępnym odwirowaniu przy niskich obrotach płyn znać osadu wirowano przy 200 000 X g przez 1 godzinę. Osad zawieszano w małej objętości PBS i poddano działaniu ultradźwięków (Branson Sonifier); 50 µl tego materiału mieszano z równą objętością surowicy odpornościowej kocięj (Behringwerke Marburg, RFN) i przetrzymywano w 37°C przez

30 minut. Następnie mieszaninę nawarstwiano na siateczkę pokrytą „formwarem” umieszczoną na powierzchni ogrzanego podłoża agarowego DST (Oxoid, CM 261). Tuż przed całkowitą dyfuzją płynu do agaru preparat barwiono za pomocą kwasu fosforowolframowego i badano w mikroskopie elektronowym (Siemens Elmiskop II).

Wyniki i omówienie

W 144 na 346 badanych próbek (41,6%) wykryto cząsteczki wirusowe, przy czym najczęściej stwierdzano obecność parwowirusów (tab. 1). W tych 144 próbkach, parwowiriony występowały w 117 (81,8%) przypadkach. W pozostałych 27 próbkach (18,7%) wykazano obecność rotawirusów, koronawirusów oraz cząsteczek podobnych do korona- i pikornawirusów (ryc. 1 a—e). W tab. 1 podano wyniki izolacji wirusów w poszczególnych latach. Nie zamieszczono w niej wyników izolacji z próbki kału (od kota z objawami biegunki i wymiotów), którą badano w bieżącym roku. Zwierzę pochodziło z grupy 5 kotów, u których występowały identyczne objawy chorobowe. Stosując mikroskopię elektronową stwierdzono cząsteczki, które zidentyfikowano jako astrowiriony na podstawie rozmiarów i ich morfologii (ryc. 1f).

Przedstawione wyniki wskazują na powszechne występowanie parwowirusów w populacji kotów na terenie RFN. W 117 na 346 próbek kału pobranego od kotów z objawami biegunki, wykazano obecność wirusa za pomocą immunoelektromikroskopii. Stosunkowo rzadko stwierdzano rotawirusy (2), koronawirusy (13), cząstki wirusowe podobne do koronawirusów (10) oraz cząstki podobne do pikornawirusów (2). Ostatnio też wykazano po raz pierwszy obecność astrowirusów.

Parwowirus kotów jest czynnikiem etiologicznym panleukopenii, choroby zwalczanej od wielu lat za pomocą swoistych szczepień. Występowanie wirusa panleukopenii u kotów może być spowodowane bardzo wysoką wytrzymałością wirusa na czynniki środowiskowe oraz tym, że odporność u kociąt można uzyskać tylko wówczas, gdy szczepienia są przeprowadzane po zaniku przeciwciał uzyskanych od matki. Zwraca uwagę zaskakująco wysoka liczba próbek pochodzących od kotów z biegunką, a zawierających parwowirusy. Istnieje duże prawdopodobieństwo, że nie jest to wirus panleukopenii, ponieważ diagnoza przy użyciu mikroskopii elektronowej oparta jest wyłącznie o strukturę morfologiczną (wielkość, kształt, substruktura). Ostateczną odpowiedź powinny przynieść badania przy użyciu metod wirusologicznych.

Wykryto tylko dwa przypadki zakażenia rotawirusami, które według badań serologicznych i epizootiologicznych, występują powszechnie w populacji kotów (Yasutaka i wsp. 1981, Snodgrass i wsp. 1979). Jest to stosunkowo niski procent zakażeń w porównaniu do odsetka cie-

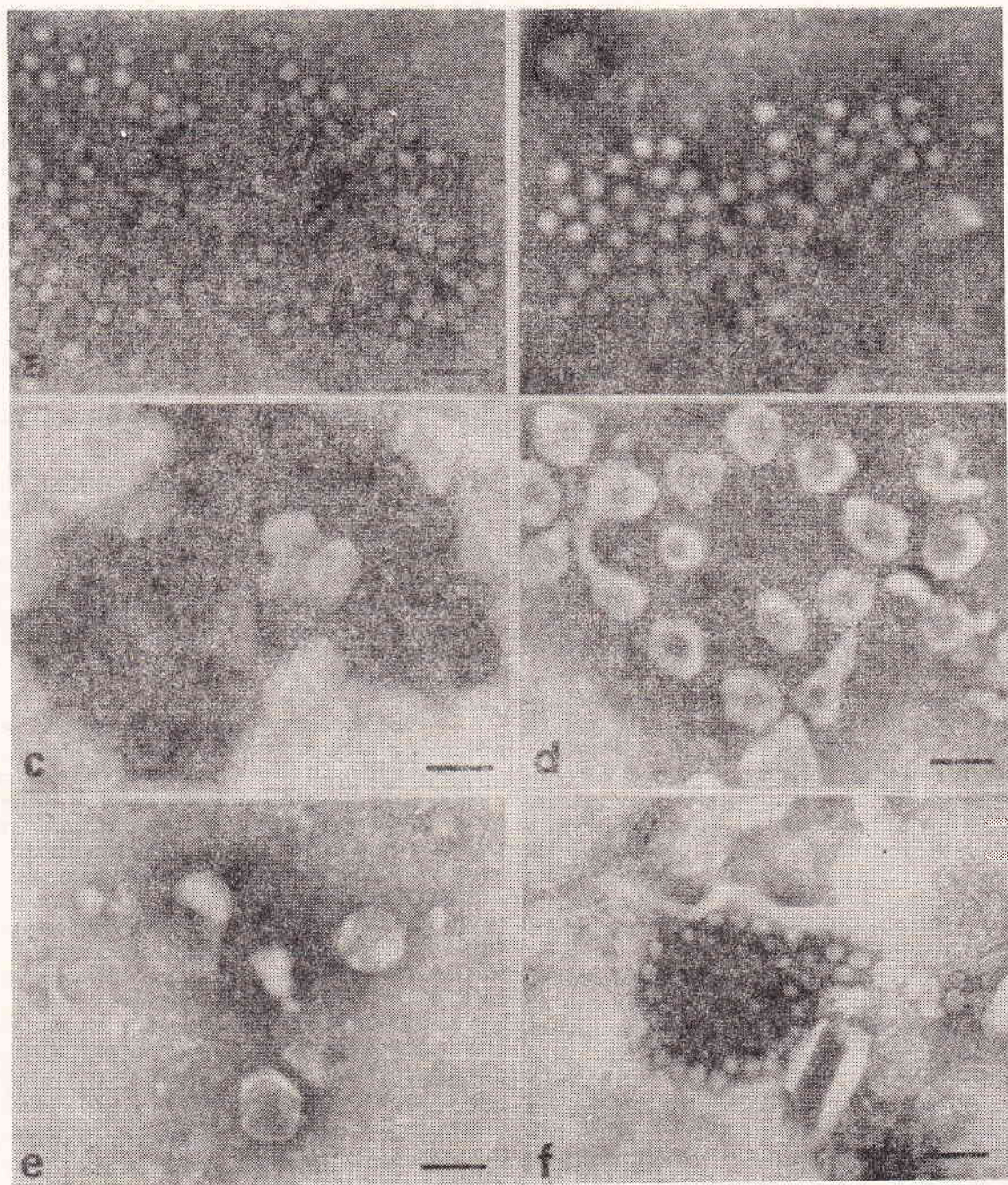
Tab. 1. Wyniki badania w mikroskopie elektronowym próbek kału i jelit pochodzących od kotów z zapaleniem jelit

	Lata: (liczba próbek)					
	1981 (28)	1982 (31)	1983 (55)	1984 (110)	1985 (122)	1986 (346)
liczba wyników pozytywnych	12	13	22	50	47	144
parwowirus	11	12	18	40	36	117
rotawirus				2		2
koronawirus	1	1	1	4	6	13
cząstki podobne do koronawirusa			2	3	5	10
cząstki podobne do pikornawirusa			1	1		2

lą (20%) z objawami biegunki, od których izolowano rotawirusy (Herbst i Krauss, dane niepublikowane). Zakażenia rotawirusami u kotów prawdopodobnie rzadko trafiają do laboratoriów w porównaniu do zakażeń tymi wirusami występującymi u cieląt. Większość przypadków terenowych przebiega bowiem bezobjawowo, na co wskazują też badania doświadczalne (Yasutaka i wsp. 1981).

Ze względu na skąpą ilość danych co do zakażeń kotów wywołanych przez koronawirusy, wyciągnięcie wniosków z przeprowadzonych badań nie jest w pełni możliwe. Według danych piśmiennictwa u kotów występuje wirus FIP, koronawirus wywołujący zapalenie jelit i cząstki podobne do koronawirusów. Koronawirusy występujące u kotów mogą wywoływać u kociąt bezobjawowe zakażenia lub zapalenie jelit o łagodnym przebiegu (Pedersen i wsp. 1981). Obserwowano również *enteritis* na tle zakażenia wirusem FIP (Hayashi i wsp. 1982). Tych czynników zakaźnych nie można odróżnić w mikroskopie elektronowym i obydwie mogły występować w 13 przytoczonych przypadkach, w których stwierdzono koronawirusy.

Cząstki o morfologii zbliżonej do koronawirusów różnią się wielkością, kształtem oraz występowaniem wypustek na zewnętrznej powierzchni (Schnagl i Holmes 1978). Występowanie ich opisano u świń z zapaleniem jelit (Turgeon i wsp. 1980), koni (Huang i wsp. 1983), królików (Eaton 1984) i u człowieka (Rousset i wsp. 1984). Cząstki podobne do koronawirusów wykazano też w próbkach kału od chorych (Dea i wsp. 1982) i zdrowych kotów (Hoshino i wsp. 1981). Cząsteczki podobne do koronawirusów, wykryte przez autorów, przypominały wielkością i kształtem właściwe koronawirusy (Ryc. 1d i 1e), ale ich wypustki powierzchniowe były krótsze i mniej liczne. Morfologicznie różniły się one jednak od wirionów opisanych przez Hoshino i Scotta (1980). Istnieje jednak konieczność potwierdzenia ich roli w etiologii biegunek.



Ryc. 1. Mikrofotografie wirionów występujących w kale i w próbkach jelit kotów (barwienie negatywne 1% kwasem fosforowolframowym; miarka odpowiada 100 nm): a — parwowirus, b — cząstki podobne do pikornawirusa, c — rotawirus, d — koronawirus, e — cząstki podobne do koronawirusa, f — astrowirus

Obecność wirusów z rodziny *Picornaviridae* nie była dotychczas notowana u kotów (Matthews 1982). Dwa przypadki, w których występowały cząsteczki podobne do pikornawirusów można porównać z sytuacją występującą u psów, od których wyizolowano szczepy ludzkie tego wirusa (Binn 1970). Cząsteczki przedstawione na ryc. 1f obserwowano w próbce kału, pochodzącego od kota z objawami wymiotów i biegunki (wiosna 1987). Biorąc pod uwagę wielkość (25–30 nm) i gwiaździsty kształt zidentyfikowano je jako astrowiriony. Morfo-

logicznie identyczne cząteczki opisał Hoshino i wsp. (1981) u kota z biegunką. Rolę astrowirusów w wywoływaniu biegunek wykazano u psów (Hammond i Timoney 1983), owiec (Snodgrass i Gray 1977), cieląt (Woode i Bridger 1978), sarn (Tzipori i wsp. 1981), myszy (Kjeldsberg i Hem 1985), kaczek (Gough i wsp. 1984), a także u człowieka (Kurtz i wsp. 1979). Autorzy po raz pierwszy stwierdzili występowanie tego wirusa u kotów.

Obecne badania dowodzą, że bezpośrednia ocena próbek kału przy użyciu mikroskopii

elektronowej posiada duże znaczenie diagnostyczne. W około 40% próbek kału, pochodzących od kotów z biegunką, stwierdzono wirusy. Ocenę można przeprowadzić szybko, zaś zarazki identyfikować bezpośrednio za pomocą

swoistych surowic odpornościowych. Metoda ta może być również łatwo zaadaptowana do badania wirusów innych gatunków zwierząt.

Wykaz piśmiennictwa u Autorów.
Tłum. Zdzisław Gliński i Janusz Wawrzkiwicz

STANISŁAW TARKIEWICZ, JACEK MADANY, IWONA UCHACZ

Biochemiczne badania płynu otrzewnowego klinicznie zdrowych krów

Pracownia Diagnostyki Klinicznej Instytutu Nauk Klinicznych, Wydział Weterynaryjny AR,
Al. PKWN 30, 20-612 Lublin

Biochemiczne badania płynu otrzewnowego byłą są fragmentaryczne. W dostępnych podręcznikach poza cechami fizycznymi i stężeniem białka całkowitego nie podaje się składu chemicznego płynu otrzewnowego zarówno w warunkach fizjologicznych, jak patologicznych (3). Wyjątek stanowią porównawcze badania surowicy i płynu otrzewnowego krów Tarkiewicza (4, 5, 6), które jednak nie uwzględniają badań mocznika, kreatyniny, cholesterolu, bilirubiny i fosforu nieorganicznego, a poza tym były wykonywane innymi metodami. W obecnej dobie przyżyciowe badania płynu otrzewnowego są niezbędne do prawidłowego rozpoznania niektórych stanów chorobowych otrzewnej i narządów jamy brzusznej. Mogą się też przyczyniać do wyjaśnienia patogenyzy niektórych jednostek chorobowych.

Przedstawione wyniki stanowią część szerszej zakrojonych badań, zmierzających do wyjaśnienia wartości i przydatności oceny składu biochemicznego płynu otrzewnowego byłą zdrowego oraz w przypadkach chorób otrzewnej i narządów jamy brzusznej. Podstawą jest znajomość zawartości i składu biochemicznego płynu otrzewnowego krów zdrowych.

Materiał i metody

Badania wykonywano u 70 krów rasy ncb w wieku od 3 do 12 lat, poddanych ubojowi. Zwierzęta pochodziły z gospodarstw indywidualnych województwa lubelskiego. Krowy były klinicznie zdrowe, badaniem poubojowym nie stwierdzono zmian otrzewnej, ani też narządów jamy brzusznej. Płyn otrzewnowy pobierano bezpośrednio po uboju po otwarciu jamy brzusznej w czasie wytrzewiania. Oznaczano poziom następujących składników biochemicznych płynu otrzewnowego: białka całkowitego i frakcji białkowych (albuminy, globuliny: alfa, beta, gamma), kreatyniny, mocznika, bilirubiny, cholesterolu, wapnia, fosforu nieorg., enzymów: AspAT, AlAT.

Poziom białka całkowitego, kreatyniny, bilirubiny, cholesterolu, wapnia i fosforu nieorganicznego określano przy użyciu automatycznego analizatora klinicznego Technicon RA-1000 Wien (Tarrytown New York). Poziom mocznika i aktywność enzymatyczną AspAT i AlAT ustalono za pomocą analizatora Opton and Brown (RFN). Stosowano następujące metody oznaczeń: białko całkowite — met. Weichselbauma, kreatynina — met. Jaffe (Picric Acid), mocznik — met. re-

akcji: ureaza + odcz. podchlorynowo-fenolowy, bilirubina — met. diazotyzacji kwasem sulfanilowym, cholesterol — met. Allain — enzymatic, Ca — met. Gitelmana, P nieorg. — met. Amadora i Urbana, AspAT — met. Karmena zmodyf. przez Scandinavian Committee on Enzymes, AlAT — met. Wróblewskiego i La Due zmodyf. przez Scandinavian Committee on Enzymes, frakcje białkowe — met. elektroforezy białkowej.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki przedstawiono w tab. 1 i 2. W tab. 1 podano wartości średnie i poziom badanych składników w jednostkach układu SI wg Lipperta (2). W tab. 2 wyniki elektroforezy białek z procentową zawartością poszczególnych frakcji białkowych.

W płynie otrzewnowym badanych krów stwierdzono obecność wszystkich oznaczanych składników biochemicznych.

Tab. 1. Poziom badanych składników biochemicznych płynu otrzewnowego krów

Badane składniki	Jednostka	\bar{x}	Zakres wahań
Białko całkowite	g/L	20,8	12,0 — 30,0
Mocznik	mmol/L	5,23	3,15 — 10,62
Kreatynina	umol/L	134,38	70,72 — 327,08
Cholesterol	mmol/L	0,47	0,182 — 0,888
Bilirubina	umol/L	3,59	1,71 — 11,97
Ca	mmol/L	1,79	1,35 — 2,5
P nieorg.	mmol/L	2,33	1,45 — 3,23
AspAT	U/L	82,43	15,00 — 189,0
AlAT	U/L	23,07	5,00 — 122,0

Tab. 2. Frakcje białkowe płynu otrzewnowego krów

Frakcje białkowe %	\bar{x}	Zakres wahań
Albuminy	50,1	39,4—66,8
Globuliny: alfa		
beta	12,1	4,5—19,4
gamma	12,0	8,0—22,3
A/G = 1,10	21,4	11,9—35,5