

HENRYK MALEC

Wykrywanie mikroanalizą rentgenowską uszkodzeń skorupy jaja przy syndromie dużej głowy u kur

Zakład Konsultingu i Usług Drobiarskich, ul. Mikołajczyka 11/14, 03-984 Warszawa

Summary

Use of X-microanalysis to detect shell injuries of eggs from hens with swollen head syndrome

Hen swollen head syndrome (SHS) results in slight macroscopic changes in the egg-shell structure. A technique of X-microanalysis was used to detect the type of shell injury in morphologically deformed places. The examined egg-shells were taken during the peak of the disease and intensive clinical lesions. Irregular cracks in the cuticle on more than 50% of the egg-shells were noted. Based on a surface distribution of the cuticle x-intensity, the foci of deficiency and irregular distribution of some elements (O, Mg, Al, An and C) were found. On a transverse cross-section a cuticle thinning was visible, as well as a deformation of the papillous layer of the shell under which some deficiencies and empty spaces could be seen.

Syndrom dużej głowy (Swollen Head Syndrome – SHS) jest stosunkowo nową jednostką chorobową kur, opisaną w 1984 r. przez Moorley i wsp. (8) w RPA. W kraju choroba pojawiła się w latach 1991-1992 (6, 15) i stanowi problem epizootyczny szczególnie w stadach reprodukcyjnych (6, 15). Przyjmuje się, że choroba wywoływana jest przez *Pneumovirus*. Stwierdzono zróżnicowane obniżenie nieśności (3, 6, 13, 18) od 30 do 40%, a także zamieranie zarodków we wczesnych stadiach embriogenezy (6). W dostępnym piśmiennictwie brak jest danych nt. wyraźnych odkształceń skorup. Zauważono jedynie w szczycie choroby dyskretne poprzeczne obrączki w środkowej części jaja (6). Natomiast depigmentację i zdeformowanie skorup obserwowano u indyków (4, 11), u których udowodniono namnażanie się wirusa w jajowodzie (5, 10).

Ultrastruktura skorupy jaja badana była w aspekcie genetycznym (12), po zatruciu ochratoksyną A (9) oraz żywieniowym (2). Jak dotąd nie badano ultrastruktury skorupy jaj pochodzących od kur chorych na SHS.

Celem badań było określenie rodzaju uszkodzeń skorup jaj w przebiegu syndromu dużej głowy z zastosowaniem mikroanalizy rentgenowskiej.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w fermie kur Starbro, w szczycie choroby, w drugim roku nieśności, po przepięczeniu. Do badania pobrano jedną skorupę uszkodzonego jaja, które wykazywało dyskretne pierścienie i zauważalne lekkie odkształcenia. Materiał pochodził z przypadku V opisanego przez Karpińską i wsp. (6).

Próbki do badań napyłono warstwą węgla w napyłarce próżniowej JEOL IEE4, celem odprowadzenia ładunku elektrycznego gromadzonego w miejscu oddziaływania wiązki elektronowej na analizowaną próbkę.

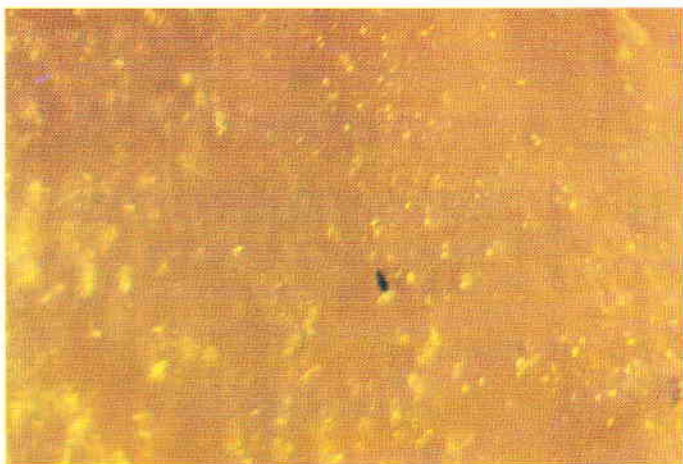
Trzy próbki skorup obserwowano w skaningowym mikroskopie elektronowym firmy PHILIPS model SEM XL30. Stosowano napięcie przyspieszające wiązkę elektronową 15 kV. Pracowano standardowo przy powiększeniu 300×, 1000× i okazjonalnie przy powiększeniu 3000× – celem uwypuklenia charakterystycznych cech mikrostruktury. Obrazy rejestrowano za pomocą niskoenergetycznych elektronów wtórnych SEI.

Analizę w mikroobszarach prowadzono za pomocą spektrometru dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego LINK ISIS firmy Oxford Instruments. Pracowano przy okienku UTW (ultra thin window), umożliwiającym rejestrację pełnego zakresu widma energetycznego (od boru do końca układu okresowego). Wykonano zarówno analizę rozkładów powierzchniowych natężenia promieniowania rentgenowskiego, jak i analizę punktową z wybranych, uśrednionych bądź charakterystycznych miejsc na powierzchniach i przekrojach poprzecznych skorup. Wybrano do analizy następujące pierwiastki: C, O, Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca; rejestrowano linie K wymienionych pierwiastków.

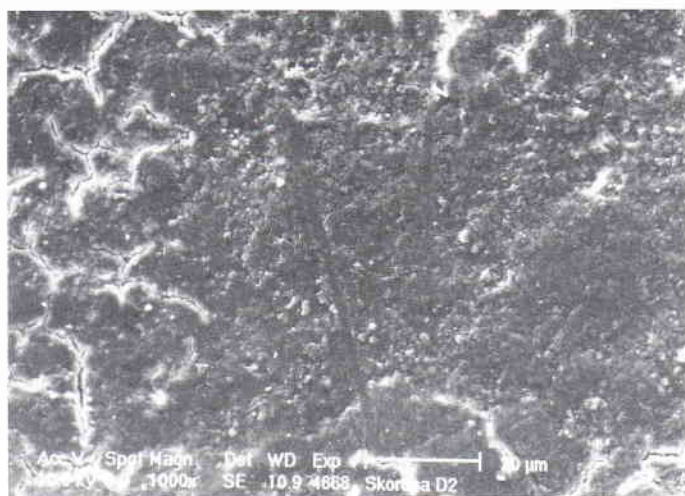
Wyniki rejestrowano na drukarce laserowej Hewlett Packard Laser Jet 4.

Wyniki i omówienie

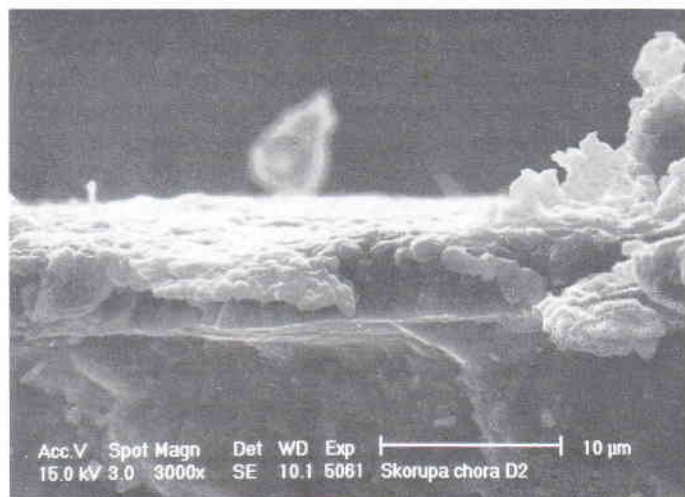
Skorupy pochodzące ze szczytu choroby w stadzie (1-2 tyg. objawów klinicznych) wykazywały przy dobrym oświetleniu zmiany powierzchniowe zbliżone do struktury skórki pomarańczy (ryc. 1). W mikroskopie skaningowym natomiast ujawniono nieregularne pęknięcia kutikuli (ryc. 2) i gruzelkowo-pęcherzykową warstwę powierzchniową z wyraźnymi naddatkami wapniowymi (ryc. 3). Cechą charakterystyczną było, że powierzchnia uszkodzonej skorupy zajmowała ponad 50% powierzchni jaja.



Ryc. 1. Powierzchnia skorupy przy SHS (50x)



Ryc. 2. Powierzchnia kutikuli skorupy przy SHS (1000x)



Ryc. 3. Struktura i grubość kutikuli zmienionej przy SHS (3000x)

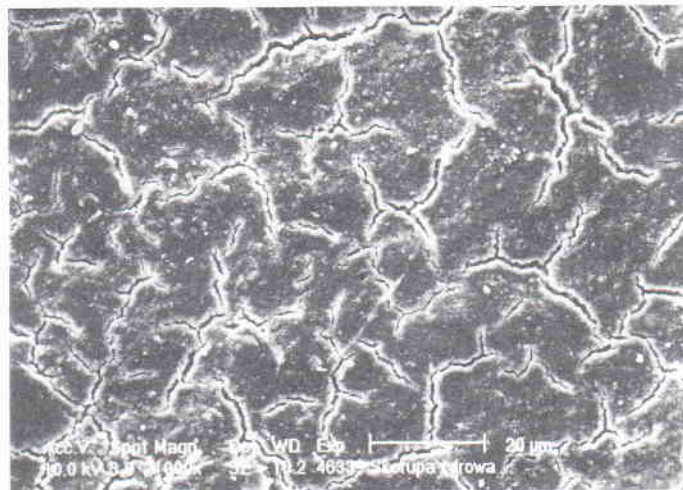
Stwierdzono, że średnica pęcherzyków kutikuli utrzymywała się w granicach 1 μm , co jest zgodne z fizjologią (1). Natomiast wyraźnie upośledzona była grubość kutikuli, która wynosiła mniej niż 5 μm (ryc. 3). Z doświadczeń Solomon (12), która zapoczątkowała badanie ultrastruktury skorupy jaja dla potrzeb hodowlanych wiadomo, że pęknięcia kuti-

kuli penetrują w głąb porów skorupy i stanowią kanały dla przepływu gazów (ryc. 4). Upośledzone występowanie typowych pęknięć w strukturze powierzchniowej jaja zakłóca wymianę gazową między zarodkiem a środowiskiem zewnętrznym jaja (7).

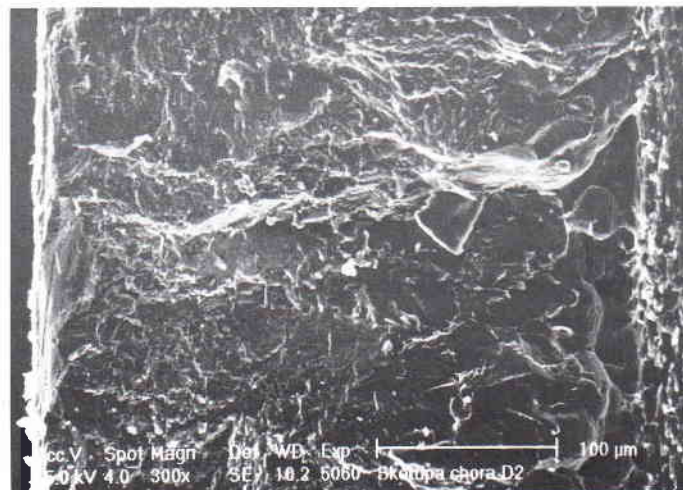
W badaniach własnych z rozkładów powierzchniowych natężenia rentgenowskiego kutikuli stwierdzono ogniska ubytków niektórych pierwiastków (Ca, P, Mg) w miejscach morfologicznie odkształconych.

Najbardziej interesujący obraz rozkładu powierzchniowych pierwiastków ujawniono na przekroju poprzecznym skorupy (ryc. 5). Z lewej strony fotogramu widoczne jest zcieńczenie kutikuli oraz odkształcenie brodawkowej warstwy skorupy. Z prawej strony fotogramu między warstwą brodawkową a błoną podskorupową, widoczne są nieregularne ubytki i przestrzenie. W warunkach fizjologicznych warstwa brodawkowa jest ściśle przyrośnięta do błony podskorupowej (12).

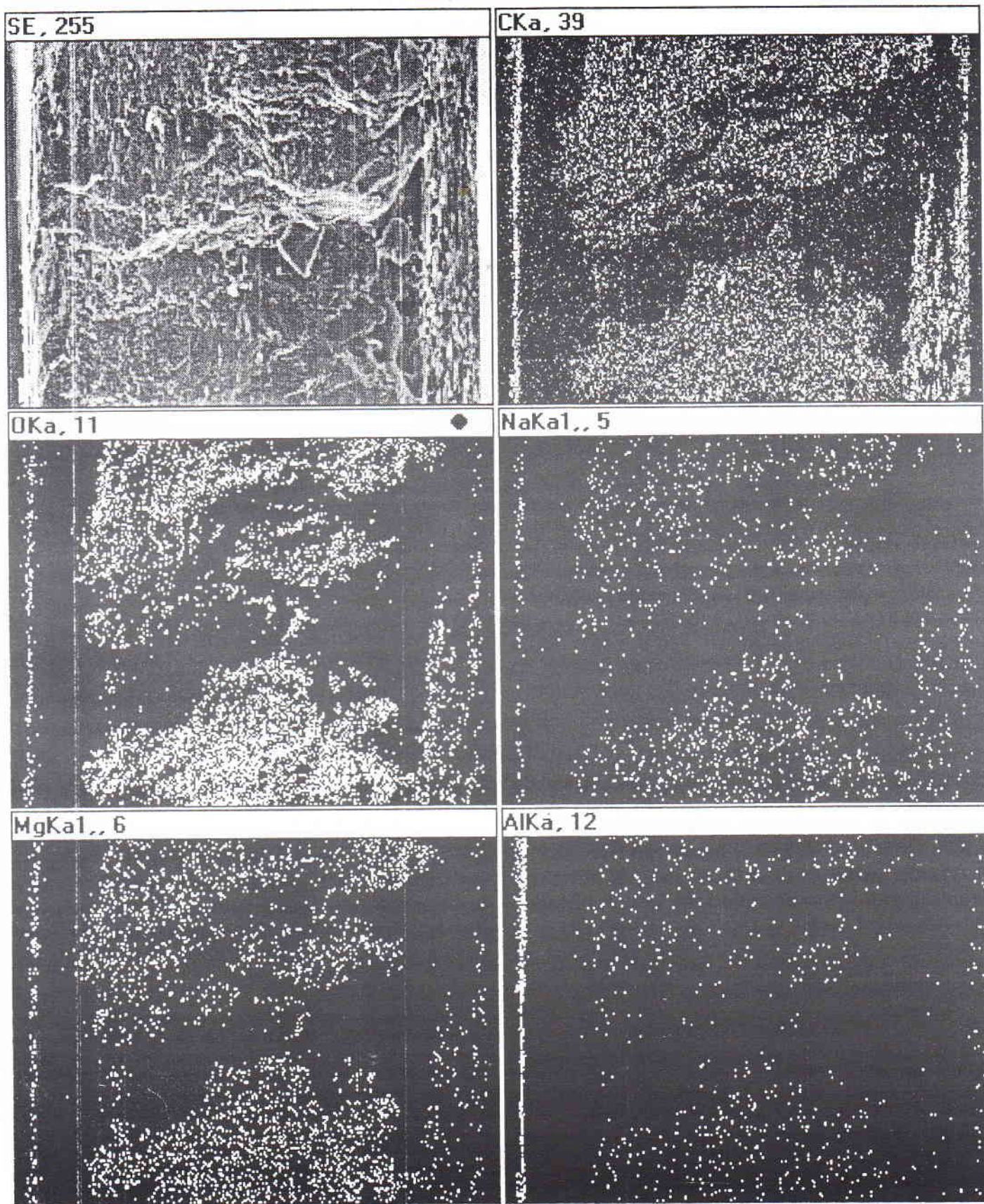
W zakażeniach wirusowych u drobiu badania biochemiczne uszkodzonych skorup stosowane są wyjątkowo. Były wykonywane przy syndromie spadku nieśności (14), w którym uszkodzenie skorupy jest objawem dominującym. Waddel i wsp. (16, 17)



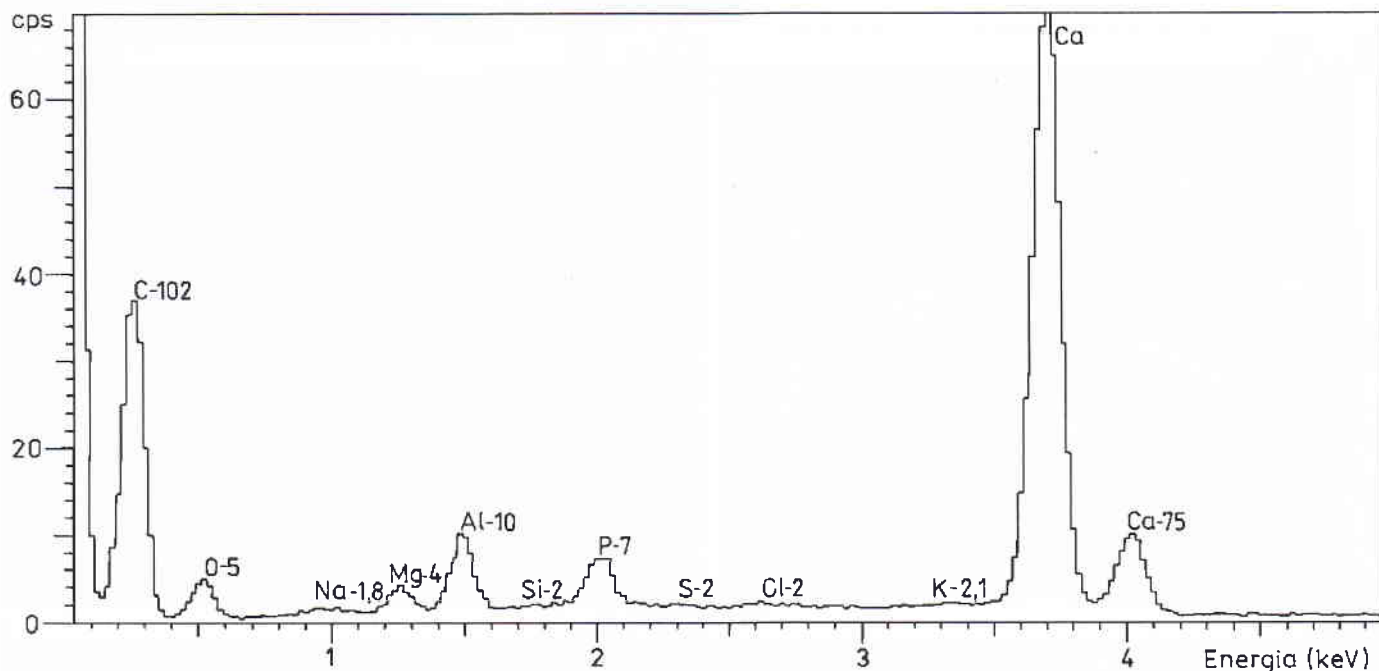
Ryc. 4. Powierzchnia kutikuli zdrowej skorupy (1000x)



Ryc. 5. Przekrój poprzeczny skorupy przy SHS (300x)



Ryc. 6. Rozkłady powierzchniowe natężenia rentgenowskiego dla następujących linii pierwiastków: O, Mg, C, Na, Al z przekroju poprzecznego skorupy z ryc. 5



Ryc. 7. Spektrum energetyczne promieniowania rentgenowskiego z powierzchni przekroju skorupy z ryc. 5: oś OY – miara natężenia promieniowania X, oś OX – napięcie przyspieszające wiązkę elektronową

wykryli zmiany rozkładu magnezu na przekroju skorupy w zależności od jego zawartości w paszy. Natomiast brak jest publikacji dotyczących zastosowania mikroanalizy do badań rozkładu powierzchniowego pierwiastków w stanach chorobowych. Z tego względu przedstawiony na ryc. 7 rozkład pierwiastków na przekroju poprzecznym skorupy jaja pochodzącego ze stada chorego na SHS jest trudny do interpretacji. Wydaje się jednak, że ilość aluminium w stosunku do pozostałych pierwiastków jest zdecydowanie za duża, natomiast łatwiejsze do wyjaśnienia są wyniki otrzymane z analizy punktowej poszczególnych pierwiastków na powierzchni przekroju poprzecznego z miejsca morfologicznie zmienionego (ryc. 6). Dla przykładu podano rozkład O, Na, Mg, Al, C z przekroju skorupy przedstawionej na ryc. 5. Okazało się, że rozkład badanych pierwiastków nie jest równomierny. Daje to podstawę do przypuszczeń, że w trakcie trwania choroby metabolizm skorupy jajowej u niosek jest zaburzony.

Piśmiennictwo

- Burley R. W., Vadahra D. V.: *The Avian Egg, Chemistry and Biology*, New York 1989.
- Costello D., Meola S. M., Odom R. W.: *Poult. Sci.* 64, 1484, 1984.
- Drouin P., Toux J. Y., Picault J. P.: *L'Avicult.* 460, 93, 1985.
- Giraud P., Bennejean G., Guillet M., Toquin D.: *Semaine Vet.* 413, 2, 1986.
- Jones R. C., Williams R. A., Baxter-Jones C., Savage C. E., Wilding G. P.: *Avian Pathd.* 17, 841, 1988.
- Karpińska E., Borzemska W., Szeleszczuk P., Minta Z., Malicka E., Romanik A.: *Medycyna Wet.* 49, 464, 1993.
- Malec H.: Wykorzystanie mikroanalizy rentgenowskiej do diagnostyki uszkodzeń skorup jaja. *Mat. IX Kongresu PTNW*, Wrocław 1996 (w druku).
- Moorley T. J., Thomson D. K.: *Avian Dis.* 28, 338, 1984.
- Niemiec J., Cywa-Benko K., Stepińska E., Weżyk S., Świerczewska E.: *Proc. 5-th Europ. Symp. on the Quality of Eggs and Egg Products*, Tours, France 4, 163-173, 1993.
- O'Loan C., Allan G. M.: *Avian Pathd.* 19, 401, 1990.
- Schricke E.: *L'Avicult.* 442, 91, 1984.
- Solomon S. E.: *Egg and Eggshell Quality*, Wolfe Medical Publ. Ltd, London 1991.
- Steenhuisen W.: *Miss. World Poult.* 8/9, 43, 1983.
- Szeleszczuk P.: *Weterynaria*, Wrocław, 45, 129, 1988.
- Szeleszczuk P., Borzemska W., Karpińska E., Kosowska G., Malicka E., Bielecki W.: *Weterynaria*, Wrocław, 49, 33, 1991.
- Waddell A. L., Board R. G., Scott V. D., Tullett S. G.: *Brit. Poult. Sci.* 30, 865, 1989.
- Waddell A. L., Scott V. D., Board R. G.: *Brit. Poult. Sci.* 28, 779, 1987.
- Wyeth P.: *Poult Dig.* 49, 16, 1990.

Adres autora: dr inż. Henryk Malec, ul. Mikołajczyka 11/14, 03-984 Warszawa

RODRIGUEZ F., FERNANDEZ A., PEREZ J., MARTIN DE LAS MULAS J., SIERRA M. A., JOVER A.: Afrykański pomór świń: zmiany morfologiczne występujące w wybroczynowej chorobie wirusowej. (African swine fever: morphology of a viral haemorrhagic disease). *Vet. Rec.* 139, 249-254, 1996 (13)

Afrykański pomór świń jest krwioczną chorobą wywołaną przez cytoplazmatyczny DNA wirus. Celem wyjaśnienia rozmieszczenia w zakażonym organizmie wirusa (VP73) oraz mechanizmu powstawania wybroczyn charakterystycznych dla tej choroby, zakażono miniaturowe świnki średniozjadliwym szczepem wirusa afrykańskiego pomoru świń (E75). Po 6 dniach po zakażeniu pojawiły się charakterystyczne, rozlane wybroczyny w tkankach zakażonych zwierząt. Badanie immunohistopatologiczne z użyciem przeciwciał monoklonalnych umożliwiło lokalizację wirusa w komórkach jednojądrzastych fagocytów, megakariocytach, komórkach kłębuszków nerkowych, nabłonku migdałków, hepatocytach, komórkach śródbłonna, a w późniejszych stadiach choroby w neutrofilach. Wybroczyny są efektem zaburzenia przez wirus wielu mechanizmów hemostatycznych takich jak zahamowanie trombocytopenoz, uszkodzenie płytek krwi, zaburzenia syntezy w wątrobie czynników zaangażowanych w krzepnięcie krwi. W przebiegu zakażenia ulegają uszkodzeniu monocyty, występuje rozlana martwica skrzepowa śródnaczyniowa oraz martwica megakariocytów.